

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA
INSTITUTO DE QUÍMICA

Projeto Final de Curso
IQWX01

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA LAB-ON-A-CHIP PARA DETECÇÃO DE
ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS**

Paulo Victor Soares Campos



Rio de Janeiro
2020

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA LAB-ON-A-CHIP PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS

Paulo Victor Soares Campos

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Químico com Atribuições Tecnológicas do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Rio de Janeiro

2020

Trabalho de Conclusão de Curso com título “Desenvolvimento de sistema Lab-on-a-Chip para detecção de adulteração em bebidas”, defendido por Paulo Victor Soares Campos, como um dos requisitos necessários para obtenção do grau de Químico com Atribuições Tecnológicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Aprovado por:

Prof^ª Dra. Maiara Oliveira Salles
Orientadora
Instituto de Química – DQA / UFRJ

Prof.^o Dr. Ricardo Cunha Michel
Orientador
Instituto de Química – DQA / UFRJ

Prof.^o Dr. Daniel Grasseschi
Instituto de Química – DQI / UFRJ

Prof.^o Dr. Fernando Henrique Cincotto
Instituto de Química – DQA / UFRJ

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos orientadores Maiara Oliveira Salles e Ricardo Cunha Michel, por toda atenção e por me ajudarem ao longo do projeto, me auxiliando em todos os problemas e dando suporte à minha pesquisa. Serei sempre grato por cada conhecimento que pude aprender através de vocês.

A todos do grupo de eletroanalítica do Labitan, com os quais tive a oportunidade de compartilhar ótimos momentos dentro e fora do laboratório. Em especial, à Luiza de Oliveira, por ter sido minha primeira tutora no mundo da eletroquímica, sempre me dando conselhos e tirando minhas dúvidas sem fim.

Aos meus amigos: Alex, Gustavo, Globner, Janela, Eva, Lucão, Mik, Iago, Naue, Tainara, Bixete, Karol, Toca, Thayná, Camila, Diogo, Victor, Pedro, Larissa, Luiza, Clara, Ramon, Xavier, Camilla, Bruno, Rabelo, Thaíssa, Ju, Kleber, Mariana, Roger, Gui Dantes, Julia, Paula, Felippo, Luis, Igor, Priori, Marcola, Lesk, Marcella, Elisa, Geisa, Jaime, Lessa, Tarouq e todas as pessoas com as quais eu vivi algum momento feliz, um desabafo, um joguinho ou um simples abraço. Cada um de vocês teve um papel especial, não só neste trabalho, como ao longo de toda a minha graduação.

A Rafael de Paula Campos e Maira Nudelman, amigos mais do que especiais que tive a honra de conhecer num período tão importante da minha vida. Guardo no meu coração as melhores lembranças dos momentos que compartilhamos juntos. Estarão sempre presentes em minha memória por tudo o que representam não só para mim, como para toda a comunidade do Instituto de Química e por onde passaram.

Aos meus pais Helaine e Carlos Augusto e minha irmãzinha Giovanna, por todo o apoio e suporte que tive ao longo de toda a minha vida. Sem o carinho, amor e acolhimento de vocês eu não teria ido a lugar algum. Reconheço e valorizo muito tudo o que já fizeram por mim.

À Amanda Dornela Torres, a pessoa mais incrível que conheci ao longo da graduação, a quem serei eternamente grato por tudo o que fez e faz por mim. Poderia fazer um TCC inteiro tentando explicar o quanto a sua presença é importante para mim, mas não daria conta. Obrigado por me proporcionar o prazer de conhecer a pessoa maravilhosa que você é e poder compartilhar todos os momentos que vivemos juntos.

RESUMO

PROJETO DE CURSO

TÍTULO: Desenvolvimento de sistema Lab-on-a-Chip para detecção de adulteração em bebidas.

ALUNO: Paulo Victor Soares Campos.

ORIENTADORES: Ricardo Cunha Michel (DQA – Instituto de Química – UFRJ) e Maiara Oliveira Salles (DQA – Instituto de Química – UFRJ).

DATA DA DEFESA: 19/02/2020

PALAVRAS-CHAVE: Lab-on-a-Chip, eletroquímica, voltametria, adulteração, eletroanalítica.

Estudo que descreve o planejamento e desenvolvimento de um sistema Lab-on-a-Chip visando a utilização de conceitos eletroquímicos para a detecção de adulteração em bebidas. A variedade de potenciais técnicas, como impressão 3D, e materiais como polímeros, utilizados na construção desse tipo de dispositivo permite a melhor adequação para o método utilizado. A construção do sistema foi feita pela confecção dos eletrodos, seguida pela impressão da peça projetada, havendo, após isso, a fixação de todos os componentes do chip com diferentes materiais: a fixação dos eletrodos no chip foi feita com cola epóxi Tekbond Araldite®; a fixação da tampa de acrílico ao chip com Loctite Durepoxi® e, por fim, a mangueira de silicone que permite a utilização da seringa para injeção de amostra conectada à tampa de acrílico com cola adesiva Loctite Super Bonder®. O dispositivo desenvolvido foi testado em análises voltamétricas com padrões conhecidos para verificação do funcionamento do mesmo. Os resultados obtidos mostraram que o chip construído é funcional e sua utilização em análises voltamétricas é viável.

Autorizamos a divulgação no Repositório Institucional da UFRJ-Pantheon.

Aluno: _____
Assinatura

Orientador: _____
Assinatura

Orientadora: _____
Assinatura

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Esquematização da disposição de uma célula eletroquímica padrão com eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e contra-eletrodo. Fonte: A. C. V. MORILLO, Eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em heparina aplicado na determinação de ácido clorogênico.	4
Figura 2 - Ilustração dos picos de correntes capacitiva e faradaica ao longo do tempo de pulso. Fonte: D. DE SOUZA, S.A.S. MACHADO, L.A. AVACA, Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos Teóricos.	5
Figura 3 - Ilustração da camada dielétrica formada próximo à superfície do eletrodo de trabalho devido ao transporte de massa, onde, por exemplo, espécies oxidadas podem ser representadas por ● (vermelho) e espécies reduzidas podem ser representadas por ● (azul). ...	6
Figura 4 - Gráfico de diferença de potencial aplicada por tempo em uma voltametria cíclica. Adaptado de SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica.	7
Figura 5 – Voltamogramas obtidos por voltametria cíclica em (A) macroeletrodo e (B) microeletrodo para um sistema reversível. Adaptado de Analytical Electrochemistry: The Basic Concepts, disponível em https://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Kelly_Potentiometry/PDF-16-WorkingElec.pdf , acessado em 29/02/2020	8
Figura 6 - Impressora GTMax3D modelo A3v2 utilizada para impressão dos chips. .	11
Figura 7 - Representação básica de um lab-on-a-chip para uma análise voltamétrica com três regiões principais, sendo: 1) introdução de amostra; 2) região para análise de amostra (contendo dois canais para inserção dos eletrodos); 3) saída da amostra.	15
Figura 8 - Ilustração apresentando um corte superior do chip, mostrando, no interior do dispositivo, os locais de injeção de amostra (1), os canais internos contidos no chip para mistura de soluções (2), poço de análise (3) e saída de amostra (4).	16
Figura 9 - Modelagem de um lab-on-a-chip contendo os canais para introdução dos eletrodos utilizados nas análises voltamétricas	17
Figura 10 - Modelagem do chip adequando os canais que alocam os eletrodos ao novo modelo de eletrodo utilizado.	18
Figura 11 - Modelagem do molde para construção da tampa a utilizada no chip.	18
Figura 12 - Imagens contendo chip confeccionado em placa de acrílico, com dimensões de 2,5 cm por 1,0 cm, seguindo o modelo básico de um lab-on-a-chip.....	19

Figura 13 - Figura apresentando o processo de fatiamento de uma peça modelada. ...	20
Figura 14 - Foto do momento de impressão de uma peça.	21
Figura 15 - Foto da primeira modelada peça impressa, com indicações do posicionamento dos eletrodos utilizados no chip. Sendo: 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.	21
Figura 16 - Foto da segunda peça modelada impressa, com a adaptação para a utilização dos novos eletrodos. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.	22
Figura 17 - Foto do molde feito para servir como molde para a confecção das tampas de acrílico para o chip.	22
Figura 18 - Ilustração de um eletrodo simples. Sendo: 1) fibra de cobre ou ouro; 2) cola de prata garantindo contato elétrico; 3) fio de Ni/Cr.	22
Figura 19 - Ilustração e foto do eletrodo adaptado com o eletrodo simples dentro de uma ponteira de pipeta preenchida com resina.	23
Figura 20 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a pasta feita de ABS e acetona.	24
Figura 21 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a resina Epoxyfiber® MC 130 – FD 155.	24
Figura 22 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a cola adesiva Tekbond 793®.	25
Figura 23 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a cola epóxi Tekbond Araldite®. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.	25
Figura 24 - Foto de uma peça impressa com a tampa de acrílico posicionada acima. .	26
Figura 25 - Utilização da cola adesiva Loctite Super Bonder® em gel para a fixação da tampa no chip.	27
Figura 26 - Utilização do Loctite Durepoxi® para a fixação da tampa no chip. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.	27
Figura 27 - Modelagem otimizada do chip após correções com tamanho dos canais que comportam os eletrodos redimensionados, a utilização do poço de análise como canal de saída e as protuberâncias nos canais de entrada de amostra.	29
Figura 28 - Modelagem da tampa do chip otimizado.	29
Figura 29 - Chip impresso após otimizações. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.	29

Figura 30 - Tampa de acrílico do chip após otimizações.	30
Figura 31 - Fixação dos eletrodos no chip otimizado com cola epóxi Tekbond Araldite®.	
1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência. ...	30
Figura 32 - Resultado esperado para a coloração da mistura das mesmas quantidades das soluções 1 (CoSO ₄) e 2 (CuSO ₄).	31
Figura 33 - Realização do teste de mistura de soluções realizado no chip otimizado..	31
Figura 34 - Resultado do teste de mistura de soluções no chip otimizado.	32
Figura 35 - Voltametria cíclica com microeletrodo de ouro, eletrodo de referência de Ag/AgCl (em KCl 3M), e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução de K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,001 mol.L ⁻¹ em KCl 0,1 mol.L ⁻¹ . Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	33
Figura 36 - Voltametria cíclica com microeletrodo de cobre, eletrodo de referência de Ag/AgCl (em KCl 3M), e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ . Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	33
Figura 37 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução de K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,001 mol.L ⁻¹ em KCl 0,1 mol.L ⁻¹ . Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	35
Figura 38 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de cobre, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ . Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	35
Figura 39 - Sobreposição dos voltamogramas obtidos com o eletrodo de cobre no chip confeccionado e no sistema padrão de eletrodos.	36
Figura 40 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	37
Figura 41 - Voltamogramas cíclicos das vodcas registrados com o microeletrodo Au: (A) Skyy®, (B) Smirnoff® e (C) Russian Rye® em NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ e V _{varredura} : 100 mV.s ¹ . Retirado de: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração, ” <i>Diss. Mestrado, UFRJ</i> , 2018.	38

Figura 42 - Mecanismo de oxidação do etanol em eletrodo de Au em meio alcalino. Fonte: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração, ” <i>Diss. Mestrado, UFRJ</i> , 2018.....	39
Figura 43 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de cobre, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.	40
Figura 44 - Voltamogramas cíclicos das vodcas registrados com o microeletrodo Cu: (A) Skyy®, (B) Smirnoff® e (C) Russian Rye® em NaOH 0,1 mol.L-1 e $V_{\text{varredura}}$: 100 mV.s ¹ . Retirado de: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração, ” <i>Diss. Mestrado, UFRJ</i> , 2018.....	40
Figura 45 - Mecanismo de oxidação proposto para a oxidação de etanol sobre o microeletrodo de Cu. Fonte: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração, ” <i>Diss. Mestrado, UFRJ</i> , 2018...	41
Figura 46 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13 adulterada com água. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.....	42
Figura 47 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13 adulterada com metanol. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.....	42
Figura 48 - Comparação entre os voltamogramas obtidos com eletrodo de ouro para o padrão de vodca Smirnoff® (–), a adulteração com adição de água (–) e a adulteração com adição de metanol (–).....	43

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Parâmetros utilizados nas voltametrias cíclicas utilizadas com o sistema construído.	13
---	----

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	LAB-ON-A-CHIP	1
1.1.1.	Formas de modelagem e construção	1
1.1.2.	Utilidades	2
1.2.	ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS	2
1.3.	TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS	3
1.3.1.	Voltametria Cíclica	6
2.	OBJETIVO	9
2.1.	OBJETIVOS GERAIS	9
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1.	CONFECÇÃO DOS COMPONENTES DO CHIP	10
3.2.	CONSTRUÇÃO DO CHIP	10
3.3.	MONTAGEM DO SISTEMA LAB-ON-A-CHIP	11
3.4.	SISTEMA DE INJEÇÃO E MISTURA DE SOLUÇÕES	12
3.5.	PREPARO DE SOLUÇÕES	12
3.6.	ANÁLISES VOLTAMÉTRICAS	13
3.6.1.	Verificação do funcionamento dos eletrodos	13
3.6.2.	Comparação com perfis eletroquímicos conhecidos	13
3.6.3.	Análise de padrão de bebida	13
3.6.4.	Análise de padrão de bebida adulterada	14
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1.	CONSTRUÇÃO DO LAB-ON-A-CHIP	15
4.1.1.	Modelagem	15
4.1.2.	Confecção	19
4.1.2.1.	Chip de acrílico	19
4.1.2.2.	Impressão 3D	19
4.1.2.3.	Confecção dos componentes do chip	22
4.1.2.4.	Fixação dos componentes do chip	23
4.1.2.5.	Sistema de injeção de amostra	26
4.1.2.6.	Otimizações no chip	28
4.1.2.7.	Teste do sistema de injeção de amostras e mistura de soluções no modelo	

4.2.	ANÁLISES VOLTAMÉTRICAS.....	32
4.2.1.	Teste de funcionamento do chip.....	32
4.2.2.	Análise de padrão de bebida	37
4.2.3.	Análise de padrão de bebidas adulteradas	41
5.	CONCLUSÕES	44
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	45
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo estão apresentados os conceitos básicos de um sistema lab-on-a-chip, suas aplicações e formas de construção, com intuito de sua utilização em técnicas eletroanalíticas e sua futura utilização na análise de adulteração em bebidas.

1.1. LAB-ON-A-CHIP

Os constantes avanços na ciência estão associados a novas tecnologias, novos conceitos e estratégias para otimizar técnicas, resultados ou reduzir custos de análises. Com isto, aumenta a necessidade de se adequar os procedimentos e métodos utilizados. A portabilidade de uma técnica, por exemplo, pode ser uma adequação a tais circunstâncias, bem como a otimização da forma de confecção de um dispositivo [1].

O aumento da pesquisa em micro e nanotecnologia possibilitou, com o passar do tempo, novas perspectivas de análise. Dentre elas estão os sistemas lab-on-a-chip (LOC), que consistem em um conjunto de microssistemas, integrando de forma miniaturizada as funções de um laboratório, podendo, dessa forma, realizar uma análise completa utilizando quantidades extremamente pequenas de amostra [2] e um dispositivo de pequenas dimensões que contém todas as funcionalidades relativas à análise em questão. Esse dispositivo é chamado de chip.

Envolvendo conceitos de microeletrônica, microfluídica e micromecânica, cada vez mais, estes sistemas vêm sendo colocados como objeto de estudo para desenvolvimento de formas de análise mais compactas, rápidas e eficientes [2][3].

1.1.1. Formas de modelagem e construção

A construção desse tipo de dispositivo pode ser feita de diversas maneiras, incluindo utilização de moldes, impressão em 3D, fresamento de placas de acrílico ou outro material [2][4]. O procedimento para confecção do chip depende da estrutura, material e finalidade do mesmo. Além dos materiais utilizados na construção do chip em si, deve-se levar em consideração materiais que participam da confecção ou fixação de componentes que são acoplados ao chip posteriormente, incluindo silicone, colas ou resinas. A utilização, ou não, destes materiais deve ser pensada tendo em vista o objetivo da técnica de análise, a modelagem do dispositivo e a matriz da amostra a ser utilizada.

Para cada sistema LOC, dependendo de sua finalidade, pode ser pensada uma forma de construção, bem como formatos e estruturas [5]. Dependendo da técnica escolhida para a confecção do dispositivo, a modelagem pode ser feita desde programas e softwares avançados aos mais simples.

Uma etapa importante no desenvolvimento do dispositivo é o modelo que determina o fluxo e a mistura de reagentes, caso necessário, bem como a forma com que será feita a análise, incluindo a possibilidade da adaptação de mecanismos ao sistema capazes de otimizar tais fatores. Então deve-se moldar o chip de forma que tais características e fatores sejam eficientes para análise [4][6][7].

Além disso, há a organização estrutural do chip, na qual fatores devem ser levados em conta, como a vazão e fluxo da amostra injetada, a quantidade de amostra utilizada na análise, o tempo pelo qual a amostra será submetida à análise e a disposição dos sensores utilizados na análise.

1.1.2. Utilidades

Um dispositivo LOC possui ampla variedade de aplicações e potenciais estudos devido às suas características estruturais. Dentre as possibilidades, estão, por exemplo, a detecção de algas, tradicionalmente identificadas por técnicas espectroscópicas e microscópicas [8], o diagnóstico de patógenos em plantas por reações em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) [9], aplicações biomédicas [6] e detecção de drogas [3].

Sendo assim, pode-se aplicar o conceito de um LOC para as mais diversas áreas. Um assunto de grande importância pública e econômica que necessita de atenção é o estudo da adulteração de bebidas e alimentos industrializados, incluindo bebidas alcoólicas, tema deste trabalho.

1.2. ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS

Um problema frequente relacionado a bebidas alcoólicas na atualidade é a adulteração tanto pela adição de substâncias tóxicas, quanto pela diluição das bebidas fornecidas. Enquanto a adulteração pela simples adição de água nas bebidas não oferece riscos à saúde, a adição de outras substâncias nas bebidas pode provocar sérias complicações ao organismo, já que, nesse tipo de adulteração, é comum a utilização de compostos de alta toxicidade ao corpo humano,

como aldeídos, metanol e ésteres em quantidade além da permitida pela legislação [10][11]. O metanol, por exemplo, é mais barato que o etanol, porém, é altamente tóxico ao organismo e pode provocar diversos sintomas, como dores de cabeça, crises renais, cegueira e até morte [12].

Um dispositivo LOC pode ser desenhado pensando na possibilidade de se analisar eletroquimicamente um componente em movimento pelo interior do chip e misturar dois componentes distintos e analisar o produto após um dado tempo, dado pela vazão da amostra e pelo caminho traçado no interior do chip.

1.3. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

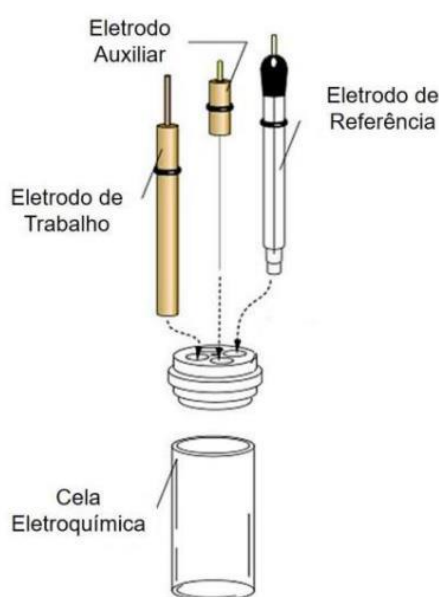
Apesar da possibilidade de se realizar análises de bebidas adulteradas e outros tipos de amostra por técnicas como cromatografia iônica, espectrometria no infravermelho, cromatografia gasosa ou espectrometria de massas [10][11][13][14][15], há como realizar tais análises por técnicas eletroquímicas, como voltametrias cíclica (VC) e de onda quadrada (VOQ). Essas técnicas se baseiam na aplicação de diferenças de potencial através de um eletrodo de trabalho a um sistema para oxidação ou redução das espécies eletroativas (espécies que são oxidadas ou reduzidas quando submetidas a dada de diferença de potencial) presentes no meio [16].

As técnicas eletroanalíticas surgem como alternativa às demais técnicas devido a fatores como baixo tempo de análise, custo de instrumentação inferior em relação às citadas anteriormente, alta sensibilidade, obtenção de dados em tempo real, possibilidade de automação [16] e, principalmente, a presença de espécies eletroativas na matriz de análise de interesse. Além disso, há a possibilidade da utilização de um equipamento portátil capaz de ser utilizado em técnicas eletroquímicas, o que permite análises em localizações que, com outras técnicas, não seriam possíveis, permitindo até mesmo análises de amostras em campo. Essa última vantagem é especialmente importante em análises forense, especificamente na análise de bebidas adulteradas, já que, muitas vezes, a amostra a ser analisada precisa ser levada a um laboratório para, somente após isso, se obter o resultado final.

Um sistema eletroquímico utilizado em voltametrias é composto, normalmente, por um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra-eletrodo, como mostrado na Figura 1, na qual são mostrados eletrodos comerciais comumente utilizados em análises voltamétricas [17]. Para um sistema lab-on-a-chip com pequenas dimensões, mesmo que utilizando os

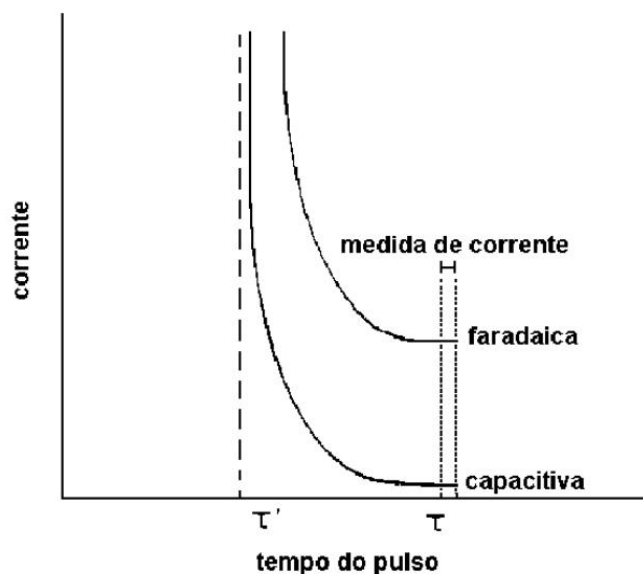
mesmos componentes, os eletrodos precisam ser redimensionados para que eles possam ser acomodados no chip. No caso da análise de adulteração em bebidas, um sistema que pode ser utilizado consiste na utilização de eletrodos de trabalho de cobre ou ouro construídos em laboratório, um fio de prata como eletrodo de referência e uma agulha de aço inox como contra-eletrodo [18][19].

Figura 1 - Esquematização da disposição de uma célula eletroquímica padrão com eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e contra-eletrodo. Fonte: A. C. V. MORILLO, Eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em heparina aplicado na determinação de ácido clorogênico.



Um tópico relevante em análises eletroquímicas é a diferença entre a corrente capacitiva e a corrente faradaica, que compõem a corrente resultante em análises voltamétricas. A corrente faradaica é a corrente referente aos processos de oxidação e redução, que reflete o resultado desejado ao se realizar as análises. A corrente capacitiva é causada por efeitos paralelos às reações de oxirredução, que provocam uma corrente que interfere nos resultados de corrente obtidos [20]. A Figura 2 mostra a contribuição da corrente capacitiva ao longo do tempo de pulso em uma análise.

Figura 2 - Ilustração dos picos de correntes capacitiva e faradaica ao longo do tempo de pulso. Fonte: D. DE SOUZA, S.A.S. MACHADO, L.A. AVACA, Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos Teóricos.

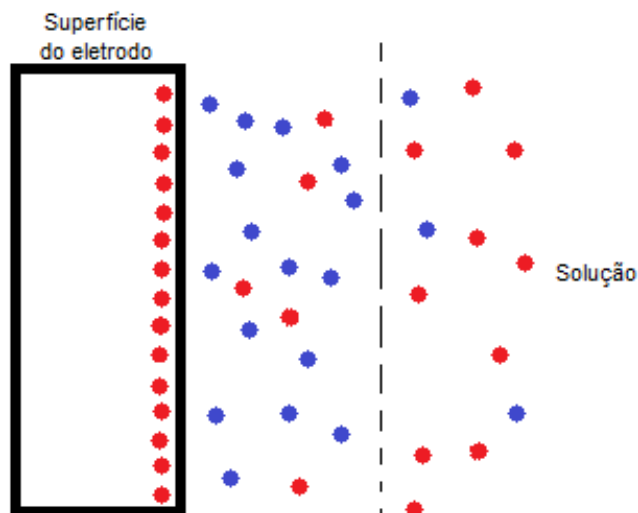


Em uma análise eletroquímica, a sensibilidade da técnica está diretamente relacionada ao eletrodo que é utilizado. A variação do tamanho da superfície do eletrodo provoca alteração na sensibilidade. A sensibilidade de macroeletrodos, que são eletrodos cujo tamanho da superfície é da ordem de milímetros, é, normalmente, menor do que em microeletrodos, cujo tamanho da superfície é da ordem de micrômetros.

Tanto em macroeletrodos quanto em microeletrodos, a espécie oxidada ou reduzida tende a ser depositada na superfície do eletrodo, impedindo que o restante da solução reaja e formando uma dupla camada elétrica (Figura 3). Isso provoca um aumento da corrente capacitiva do sistema, reduzindo assim sua sensibilidade. Entretanto, em microeletrodos o transporte de massa na região próxima à superfície do eletrodo é feito de forma radial, ao contrário de macroeletrodos, que é feito de forma perpendicular à superfície do eletrodo. Isso faz com que as espécies nessa região sejam renovadas com maior eficiência.

A sensibilidade de um macroeletrodo pode ser melhorada com agitação da amostra analisada. A agitação da solução promove um transporte de massa mais eficiente, o que reduz a formação dessa camada dielétrica e diminui a contribuição da corrente capacitiva na corrente medida [20]. Nesse sentido, pode-se dizer que um microeletrodo é superior a um macroeletrodo porque possui maior sensibilidade dispensando agitação para aumento do transporte de massa. Vale ressaltar que, em outros aspectos, tais como a facilidade de manuseio, o macroeletrodo se sobrepõe ao microeletrodo. Dessa forma a escolha do tipo de eletrodo está intimamente ligada ao tipo de análise a ser conduzida.

Figura 3 - Ilustração da camada dielétrica formada próximo à superfície do eletrodo de trabalho devido ao transporte de massa, onde, por exemplo, espécies oxidadas podem ser representadas por ● (vermelho) e espécies reduzidas podem ser representadas por ● (azul).



O uso de técnicas eletroquímicas possibilita a determinação quantitativa de determinado composto em uma amostra, desde que o mesmo seja eletroativo, independente de se tratar de um processo reversível ou irreversível, onde em um processo reversível ocorre tanto a oxidação quanto a redução de um composto e em um processo irreversível só há uma das etapas ocorrendo. Em voltametrias, a corrente obtida é proporcional a concentração de determinada espécie [20][21]. A partir disso, pode-se utilizar esse tipo de técnica para determinar, por exemplo, a concentração de metanol em uma bebida alcoólica.

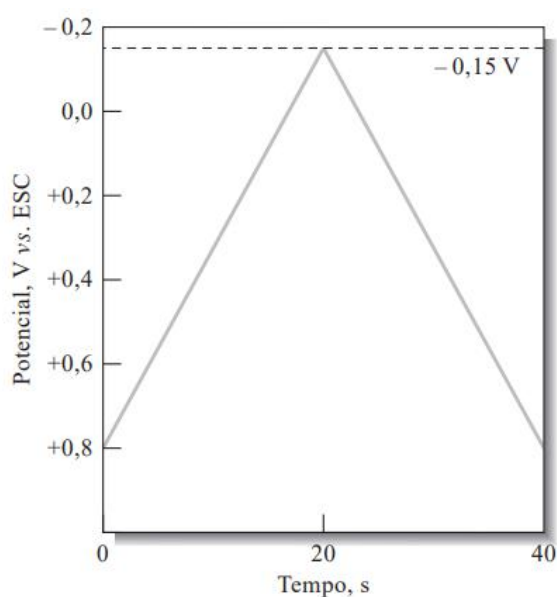
Desta forma, para agilizar e portabilizar o processo de análise de bebidas adulteradas, pode-se utilizar um LOC capaz de detectar adulterações em bebidas de maneira rápida, barata e eficiente.

1.3.1. Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é uma das técnicas eletroquímicas usadas com maior frequência devido à quantidade de informações que podem ser retiradas da mesma e sua praticidade de execução [22]. Voltametrias cíclicas são usadas comumente para se estudar a janela de potencial de um dado sistema eletroquímico, além da utilidade de testar o funcionamento de eletrodos e materiais.

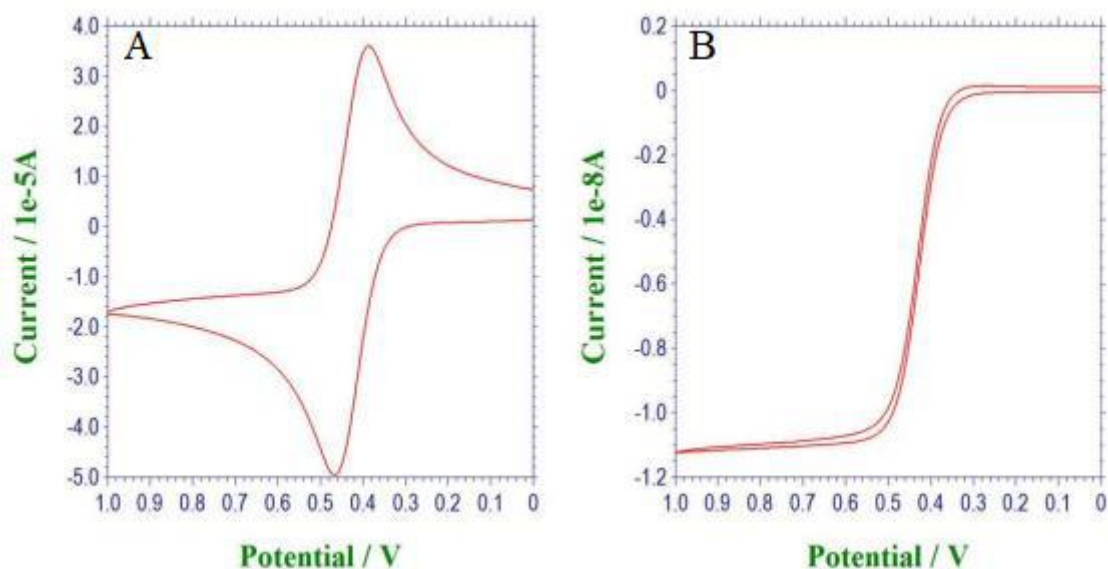
Essa técnica consiste na aplicação de uma diferença de potencial a uma solução em determinados intervalos de tempo, de forma que haja uma variação constante dessa diferença de potencial com o tempo (Figura 4) [21]. Dessa forma, com a resistividade da solução sendo mantida constante, são obtidos valores de corrente para cada valor de diferença de potencial, resultando em um gráfico de corrente por diferença de potencial.

Figura 4 - Gráfico de diferença de potencial aplicada por tempo em uma voltametria cíclica. Adaptado de SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica.



Voltametrias cíclicas de sistemas reversíveis e irreversíveis possuem uma diferença característica, que é a observação dos picos tanto de oxidação quanto de redução em processos reversíveis (Figura 5), enquanto em processos irreversíveis observa-se somente a redução ou oxidação da espécie [20].

Figura 5 – Voltamogramas obtidos por voltametria cíclica em (A) macroeletrodo e (B) microeletrodo para um sistema reversível. Adaptado de Analytical Electrochemistry: The Basic Concepts, disponível em https://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Kelly_Potentiometry/PDF-16-WorkingElec.pdf, acessado em 29/02/2020



Como observado na Figura 5, sem considerar a diferença entre as correntes obtidas devido à variação no raio dos eletrodos, os voltamogramas realizados em macroeletrodo e microeletrodo apresentam perfis diferentes. Um voltamograma obtido por um microeletrodo possui um perfil muito bem definido, com contribuição mínima da corrente capacitiva. Isso não é observado em um macroeletrodo, com alta contribuição da corrente capacitiva, dando forma a um perfil mais alargado no voltamograma.

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVOS GERAIS

Projetar e construir um dispositivo Lab-on-a-Chip com o qual seja possível realizar análises voltamétricas para detectar adulteração em bebidas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (A). Modelar o chip e seus componentes;
- (B). Projetar e otimizar a técnica para a construção do chip, bem como os materiais utilizados;
- (C). Analisar padrões com o sistema construído;
- (D). Realizar análises voltamétricas utilizando o chip construído para verificar adulteração em bebidas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são detalhados os procedimentos e materiais envolvidos na construção do chip em desenvolvimento, além das análises realizadas para a verificação do funcionamento do mesmo.

3.1. CONFECÇÃO DOS COMPONENTES DO CHIP

A construção dos eletrodos utilizados foi feita manualmente. O contra-eletrodo utilizado é uma agulha de aço inox e foram utilizados como eletrodo de referência, em diferentes momentos e um fio de prata.

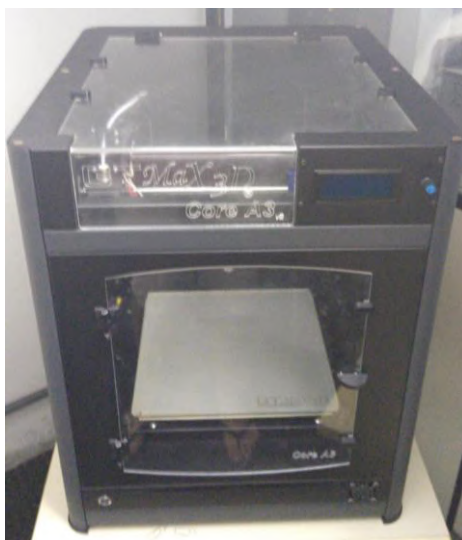
Os eletrodos de trabalho utilizados no chip são compostos de uma microfibras de ouro ou cobre em contato elétrico com um fio de Ni/Cr promovido por uma cola condutiva de prata, que é composta por uma cola adesiva contendo prata metálica em suspensão. Posteriormente, este conjunto foi acomodado em uma ponteira de pipeta automática com o auxílio de resina Araldite® para promover uma maior proteção à fibra utilizada no eletrodo.

3.2. CONSTRUÇÃO DO CHIP

O projeto das peças para impressão 3D foi realizado com o auxílio do programa *on-line* Tinkercad (www.tinkercad.com), de acesso gratuito.

As peças impressas foram fatiadas pelo programa comercial Simplify3D (www.simplify3d.com) e produzidas com uma impressora GTMax3D modelo A3v2 (Figura 6), de filamento fundido, utilizando filamentos de acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS), da marca 3DFila, de 1,75 mm de diâmetro, a 245 graus Celsius de temperatura do bico e 115 graus Celsius de temperatura na mesa de vidro, usando suspensão aquosa de polivinilpirrolidona (PVP) como adesivo.

Figura 6 - Impressora GTMax3D modelo A3v2 utilizada para impressão dos chips.



As peças gravadas em fresadora de comando numérico computadorizado (CNC) foram produzidas em chapas de acrílico, sendo desenhadas no programa aberto Inkscape v0.92 (www.inkscape.org) e gravadas em uma fresadora CNC, da marca XYZ Mecatrônica, modelo Robusta 1000x700, com fresa de gravação flat, 10 graus, de 0,1 mm, e cortadas com fresa de corte invertido 1x3 mm.

3.3. MONTAGEM DO SISTEMA LAB-ON-A-CHIP

A fixação dos componentes no chip foi feita utilizando-se, em diferentes momentos, os materiais listados a baixo, sendo o que melhor atendeu às nossas necessidades foi a cola epóxi Tekbond Araldite®.

- Pasta feita a partir da mistura de ABS com acetona;
- Resina da marca Epoxyfiber® MC 130 – FD 155;
- Cola epóxi Tekbond Araldite®;
- Cola Loctite Super Bonder® em gel;
- Cola adesiva Tekbond 793®.

Depois de fixados os componentes, a tampa de acrílico foi colada ao chip com o uso de cola Loctite Super Bonder® em gel e Loctite Durepoxi®.

3.4. SISTEMA DE INJEÇÃO E MISTURA DE SOLUÇÕES

O sistema de injeção de amostra consiste em uma seringa de plástico Descarpac® de 20 mL conectada ao chip por uma mangueira de silicone com diâmetro externo de 5,5 mm e diâmetro interno de 4,0 mm.

O sistema de mistura de amostras foi testado com a adição de duas soluções coloridas, com vazão de amostra aproximadamente igual, nos dois canais de injeção e a verificação da coloração final da mistura.

3.5. PREPARO DE SOLUÇÕES

Para o teste do sistema de misturas, foram utilizadas soluções dos seguintes sais:

- Sulfato de cobre (CuSO_4 /Carlo Erba)
- Sulfato de cobalto (CoSO_4 /J.T. Baker)

Para as análises voltamétricas de teste, foram utilizadas as seguintes soluções:

- Para o eletrodo de ouro, solução de ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ /Merck) 0,001 mol.L⁻¹ em cloreto de potássio (KCl /Vetec) 0,1 mol.L⁻¹.
- Para o eletrodo de cobre, solução de hidróxido de sódio (NaOH /Quimex) 0,1 mol.L⁻¹.

As análises de bebida foram feitas com a vodca Smirnoff®. O pH da vodca foi ajustado a 13 com adição de solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para garantir a ionização do analito de interesse, o etanol.

A análise de padrão foi feita com a vodca Smirnoff® ajustada a pH 13.

Para as análises de adulteração possíveis no padrão, foram utilizadas as seguintes soluções:

- Adição de água: 7,0 mL de padrão + 3,0 mL de água
- Adição de metanol: 9,5 mL de padrão + 0,5 mL de metanol (Tedia)

3.6. ANÁLISES VOLTAMÉTRICAS

As análises voltamétricas foram realizadas em um bipotenciostato/galvanostato Dropsens μ Stat 400.

Todas as voltametrias cíclicas realizadas no chip foram com a utilização de microeletrodos de ouro ou cobre como eletrodos de trabalho, agulha de aço inox como contra-eletródo e fio de prata como eletródo de referência.

Os parâmetros utilizados para a técnica estão contidos no Quadro 1, a seguir:

Quadro 1 - Parâmetros utilizados nas voltametrias cíclicas utilizadas com o sistema construído.

Eletródo de trabalho	Janela de potencial (V)	V _{Scan} (mV/s)	E _{Equal} . (V)	T _{Equal} . (s)
Ouro	-0,9 a 0,9	100	-0,9	30
Cobre	-0,9 a 0,9	100	-0,9	30

3.6.1. Verificação do funcionamento dos eletrodos

Para uma primeira visualização do funcionamento do chip, bem como dos eletrodos, foram realizadas voltametrias cíclicas nos parâmetros definidos em solução de K₃[Fe(CN)₆] 0,001 mol.L⁻¹ em KCl 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte para o microeletrodo de ouro e solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ para o microeletrodo de cobre.

3.6.2. Comparação com perfis eletroquímicos conhecidos

Além disso, foram feitas voltametrias cíclicas em microeletrodos de ouro e cobre, sem nenhuma relação com o chip confeccionado, nas mesmas soluções citadas acima. O eletródo de referência utilizado nessas análises é um de Ag /AgCl (KCl 3 mol/L). O contra-eletródo utilizado foi a agulha de aço inox.

3.6.3. Análise de padrão de bebida

Foram feitas voltametrias cíclicas com o padrão da vodka Smirnoff® em pH 13 utilizando o chip construído utilizando os parâmetros mostrados no Quadro 1.

3.6.4. Análise de padrão de bebida adulterada

Foram feitas voltametrias cíclicas simulando a adulteração em bebidas utilizando o padrão da vodca Smirnoff com pH 13 adulterado com água e metanol utilizando os parâmetros mostrados no Quadro 1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados das metodologias empregadas no trabalho e feitas discussões acerca dos mesmos.

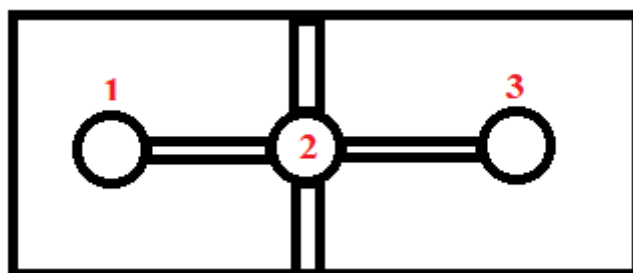
4.1. CONSTRUÇÃO DO LAB-ON-A-CHIP

Serão apresentados e discutidos a modelagem do sistema em relação à fabricação do mesmo e não no sentido de simulação computacional, resultados da confecção do dispositivo por impressão 3D e fresamento e montagem do chip com os componentes, bem como suas otimizações realizadas.

4.1.1. Modelagem

Dependendo da utilização do chip, deve-se adotar diferentes posturas com relação à sua construção e modelagem. Tendo em vista que o sistema lab-on-a-chip a ser desenvolvido é voltado para análises voltamétricas, a modelagem do chip foi feita visando, como mostrado na Figura 7, a introdução da amostra em canais conectados a uma seringa (com possibilidade de uma mistura de soluções dentro do próprio chip) (1), um pequeno poço onde estão contidos os componentes necessários para as análises (2) e um canal para saída da amostra (3).

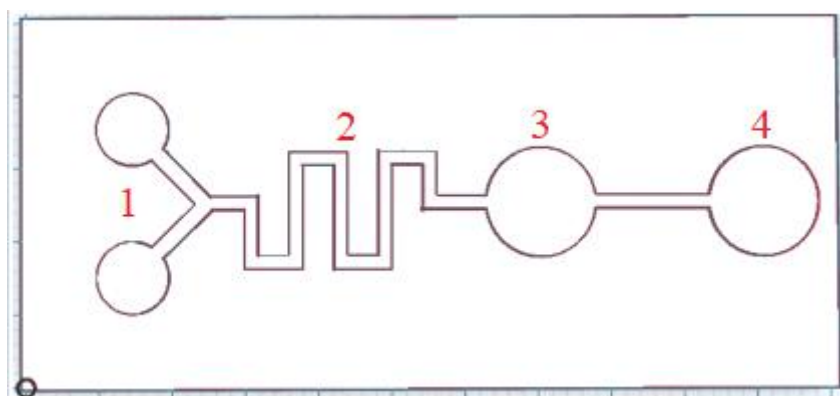
Figura 7 - Representação básica de um lab-on-a-chip para uma análise voltamétrica com três regiões principais, sendo: 1) introdução de amostra; 2) região para análise de amostra (contendo dois canais para inserção dos eletrodos); 3) saída da amostra.



Um LOC pode possuir uma variada quantidade de camadas, o que dá maior versatilidade aos dispositivos confeccionados. Com uma breve visualização do modelo inicial do chip, pode-

se então projetar estruturas que atendem à utilização de análises eletroanalíticas com uso de pequenas quantidades de amostra, levando em consideração alguns outros fatores. Dentre esses fatores estão a quantidade de componentes necessários para realizar as análises, o formato e largura dos canais internos, incluindo o poço de análise. Essa etapa possui grande importância, pois os canais internos determinam a eficiência do fluxo de amostra no chip, além da limpeza de amostra entre as análises. A disposição dos canais determina se uma eventual mistura de soluções no chip será eficiente ou não. Portanto, foi pensado em uma disposição para os canais internos com ângulos retos capazes de promover pequenos vórtices ao longo do canal, favorecendo a mistura das soluções, como mostrado na Figura 8. As dimensões utilizadas para as primeiras versões do lab-on-a-chip realizadas foram de 5,0 cm por 2,0 cm. Além disso, foi pensada em uma modelagem que permite a fixação de diferentes eletrodos de trabalho ao chip simultaneamente, dando a possibilidade de, em diferentes momentos, se utilizar diferentes eletrodos nas análises.

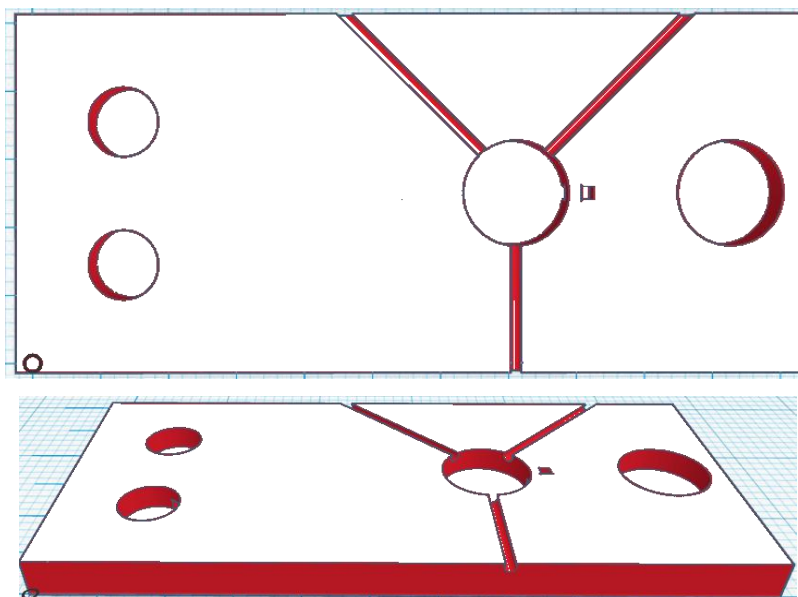
Figura 8 - Ilustração apresentando um corte superior do chip, mostrando, no interior do dispositivo, os locais de injeção de amostra (1), os canais internos contidos no chip para mistura de soluções (2), poço de análise (3) e saída de amostra (4).



A partir disso, foram feitos ajustes e otimizações para o modelo proposto. Depois de determinados os tamanhos dos canais para os componentes do chip, com 1,0 mm de largura, inicialmente; o tamanho dos canais internos, tendo 1,0 mm de largura; e o tamanho dos orifícios e entrada e saída de amostra para conexão com a seringa, com, respectivamente, 5,0 e 7,5 mm de diâmetro e 3,5 mm de altura, foi obtido um primeiro modelo, como mostra a Figura 9. Com essas medidas, o volume máximo de amostra que o chip comporta em seus canais e poço de análise é, aproximadamente, 0,4 mL.

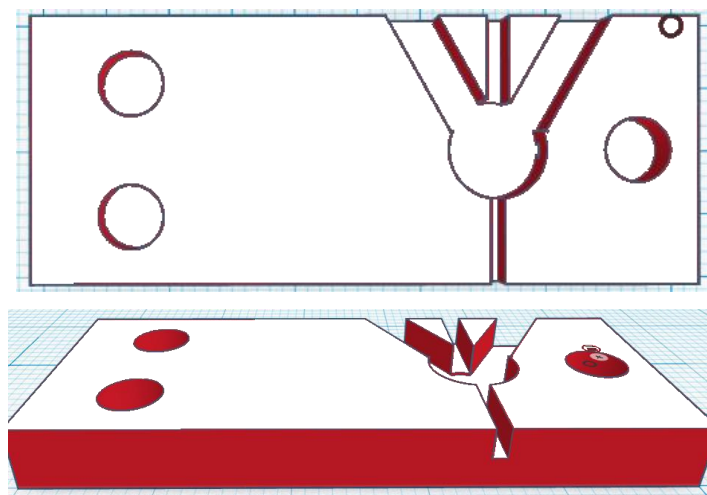
Deve-se lembrar que os canais entre os orifícios de entrada, análise e saída, assim como os canais para a mistura da amostra, apesar de não aparecerem na Figura 9 e nas seguintes, está presente no interior do chip e por isso não é possível observá-los.

Figura 9 - Modelagem de um lab-on-a-chip contendo os canais para introdução dos eletrodos utilizados nas análises voltamétricas



Posteriormente, foi verificada a necessidade de alteração do primeiro modelo construído para adequação ao novo formato do eletrodo utilizado, aumentando os canais, como explicado posteriormente, no tópico 4.1.2.4.. Sendo assim, após feitas alterações nos tamanhos dos canais referentes aos eletrodos em questão, o novo modelo (Figura 10) foi utilizado como base para os testes futuros.

Figura 10 - Modelagem do chip adequando os canais que alocam os eletrodos ao novo modelo de eletrodo utilizado.



Foi feito um modelo de uma tampa para o chip, cuja finalidade é vedar o poço e os componentes do chip, bem como promover o contato entre o chip e a seringa para a injeção de amostra. Dessa forma, a modelagem foi feita visando o melhor contato possível entre o chip e o sistema de injeção de amostra, como ilustrado na Figura 11. Esse modelo foi utilizado como molde para a confecção de tampas de acrílico por fresamento que, por ser um material transparente, possibilita uma clara visualização dos componentes do chip. A tampa de acrílico permite que, ao mesmo tempo em que haja vedamento dos canais por onde as amostras são introduzidas, se tenha noção de como a solução flui pelo chip, visto que o poço de análise se encontra no mesmo nível dos canais internos.

Figura 11 - Modelagem do molde para construção da tampa a utilizada no chip.



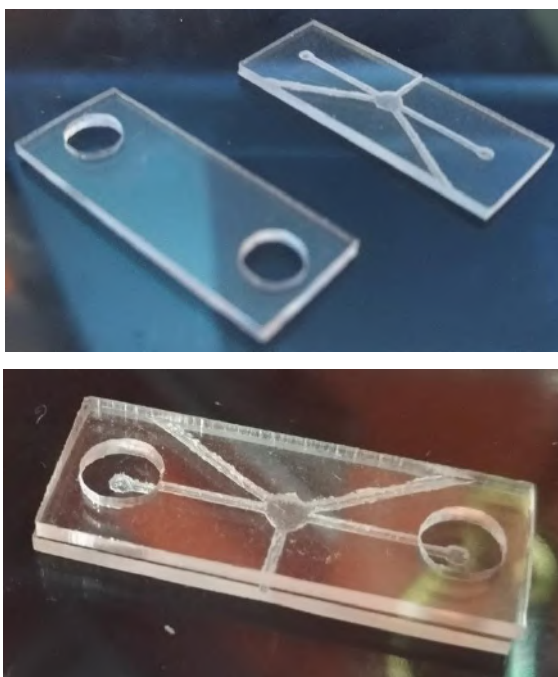
4.1.2. Confeção

Nesta seção são apresentados os resultados das confecções das peças modeladas com a utilização de impressão 3D e fresamento.

4.1.2.1. Chip de acrílico

Inicialmente, foi feito um protótipo de um sistema lab-on-a-chip contido em uma pequena placa de acrílico, com canais gravados em fresadora CNC, como mostrado na Figura 12, entretanto, pela dimensão dos materiais e componentes que seriam utilizados em relação às dimensões da placa, optou-se por não adotar esta forma de confecção do chip. Isso porque, para tais dimensões, há a possibilidade de utilizar a impressão 3D, por exemplo.

Figura 12 - Imagens contendo chip confeccionado em placa de acrílico, com dimensões de 2,5 cm por 1,0 cm, seguindo o modelo básico de um lab-on-a-chip.



4.1.2.2. Impressão 3D

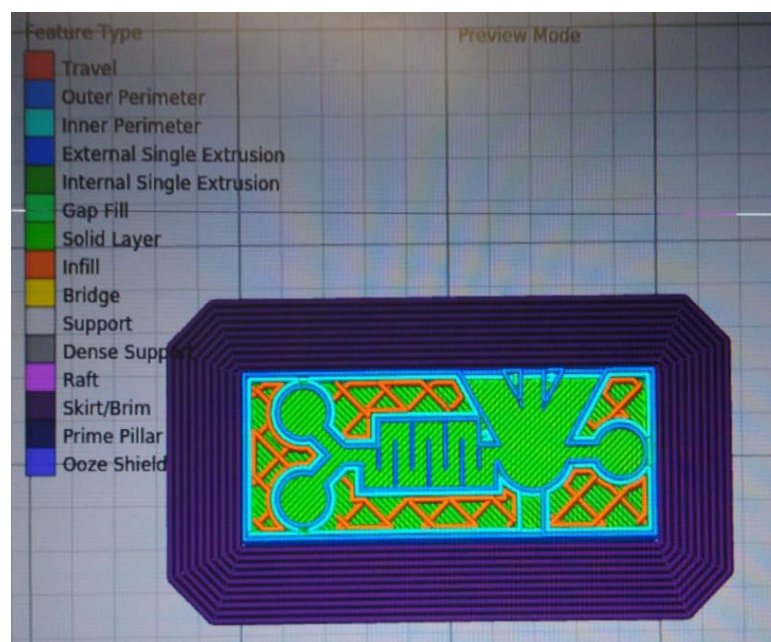
A impressão 3D surge como uma alternativa rápida, de baixo custo e eficiente para a construção dos chips. No processo de impressão, há uma etapa chamada de fatiamento da peça

que está sendo confeccionada. No fatiamento são determinados fatores como a vazão de filamento utilizado, a velocidade que a extrusora da impressora trabalhará, a quantidade de filamento utilizado nas chamadas camadas de preenchimento (camadas que, normalmente, são utilizadas para dar estrutura e firmeza para as peças) e a temperatura do filamento liberado.

Ao se fazer o fatiamento das peças a serem impressas no software Simplify3D, é fornecida uma estimativa de preço, quantidade de material e tempo de confecção da peça em questão. Cada chip confeccionado por impressão 3D, no modelo utilizado, leva de, aproximadamente, 5 a 6 minutos para ficar pronto, custando aproximadamente R\$0,40 cada. A possibilidade de confecção de várias peças ao mesmo tempo facilita ainda mais o processo de construção do chip.

Na Figura 13 é apresentado um processo de fatiamento de uma peça modelada, com indicações das diferentes camadas utilizadas no chip.

Figura 13 - Figura apresentando o processo de fatiamento de uma peça modelada.



A primeira peça impressa foi a que utiliza o esquema simplificado de eletrodos como componentes, como mostrado na modelagem indicada na Figura 9. Como a impressão 3D possibilita a impressão de um número elevado de peças por procedimento, isso possibilita uma formação de um estoque de peças que podem ser submetidas a testes posteriormente. A Figura 14 mostra o processo de impressão dessas peças e a Figura 15 mostra a peça impressa com as

indicações do posicionamento dos eletrodos utilizados no chip. Essa conformação foi utilizada em todas as peças confeccionadas.

Figura 14 - Foto do momento de impressão de uma peça.

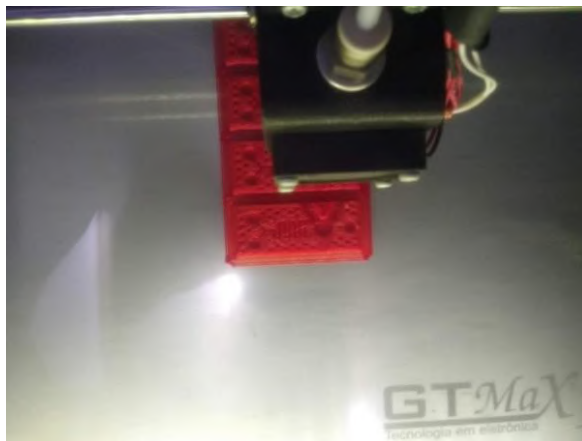
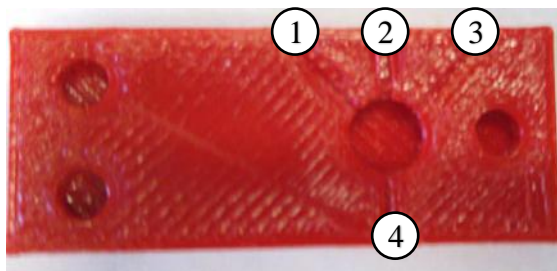
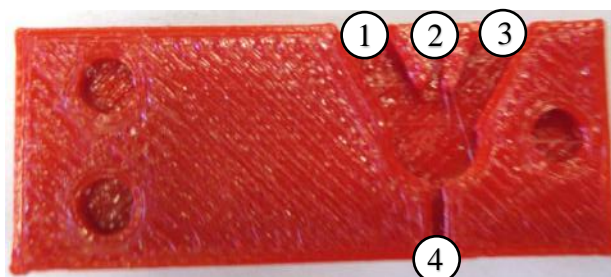


Figura 15 - Foto da primeira modelada peça impressa, com indicações do posicionamento dos eletrodos utilizados no chip. Sendo: 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.



Posteriormente, foi feita a impressão da peça cuja modelagem foi adaptada para a utilização do novo esquema de eletrodos utilizado, mostrado na modelagem indicada pela Figura 10. A Figura 16 mostra a peça adaptada impressa.

Figura 16 - Foto da segunda peça modelada impressa, com a adaptação para a utilização dos novos eletrodos. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.



Da mesma maneira, foi impresso o molde utilizado para a confecção das tampas para os chips que possibilita um sistema de injeção funcional, como mostrado na Figura 17.

Figura 17 - Foto do molde feito para servir como molde para a confecção das tampas de acrílico para o chip.



4.1.2.3. Confecção dos componentes do chip

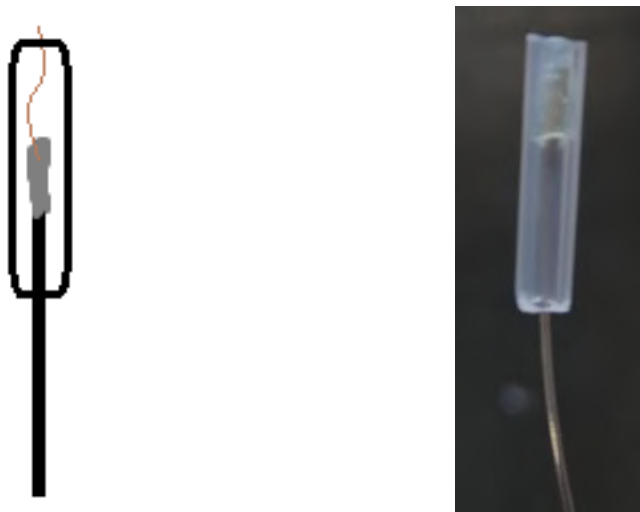
A confecção dos eletrodos de trabalho, inicialmente compostos somente pelo fio de Ni/Cr em contato elétrico com as fibras de cobre e ouro, é ilustrada na Figura 18.

Figura 18 - Ilustração de um eletrodo simples. Sendo: 1) fibra de cobre ou ouro; 2) cola de prata garantindo contato elétrico; 3) fio de Ni/Cr.



O eletrodo adaptado em uma ponteira de pipeta é mostrado na Figura 19.

Figura 19 - Ilustração e foto do eletrodo adaptado com o eletrodo simples dentro de uma ponteira de pipeta preenchida com resina.



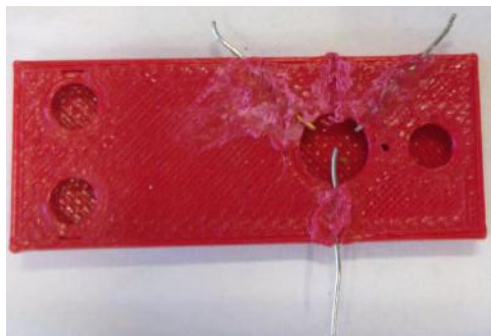
4.1.2.4. Fixação dos componentes do chip

A fixação dos eletrodos, da tampa de acrílico e mangueira para injeção de amostra foi feita de variadas formas. Para cada uma dessas etapas, foi feito um estudo sobre qual o melhor material para se utilizar levando em conta a aderência entre os componentes e o chip, a facilidade de manuseamento do material, a praticidade e eficiência do processo como um todo.

A fixação dos eletrodos inicialmente foi pensada com a utilização da mistura feita do polímero ABS com acetona. Essa foi a primeira opção devido à utilização do mesmo material que compõe o chip. O ABS é dissolvido em acetona, formando uma mistura pastosa, semelhante a uma cola. Essa pasta foi utilizada para colar os fios no chip porque, uma vez que a acetona evapora da mistura, o ABS se torna rígido novamente.

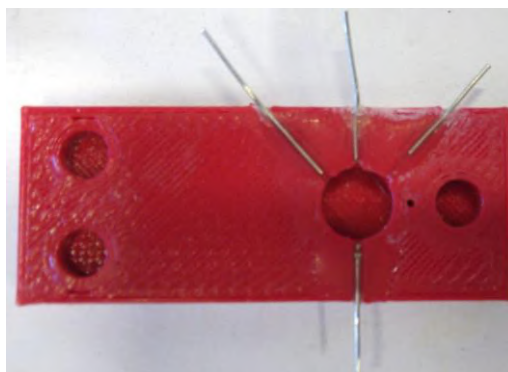
Entretanto, essa mistura não se mostrou eficiente pois, além da dificuldade de manuseio com a pasta e o eletrodo, não houve aderência entre o fio e o ABS. Os eletrodos, por mais que presos ao chip, ficaram com certa folga, o que poderia ser um problema nas análises. Então este método foi descartado. A Figura 20 mostra um teste da utilização dessa mistura para a fixação dos eletrodos.

Figura 20 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a pasta feita de ABS e acetona.



Como alternativa à pasta de ABS, foram feitos testes com a resina da marca Epoxyfiber® MC 130 – FD 155. Um primeiro teste mostrou um enorme potencial na utilização dessa resina para a fixação dos eletrodos. Após o endurecimento, os eletrodos ficaram completamente colados ao chip, com a firmeza esperada. Porém, nos testes seguintes, houve dificuldade com o proporcionamento da resina e catalisador. Isso fez com que a resina não ficasse devidamente rígida e os eletrodos não se fixavam bem. A Figura 21 mostra uma peça com os fios fixados com resina.

Figura 21 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a resina Epoxyfiber® MC 130 – FD 155.



Um problema que surgiu a partir disso foi a respeito da microfibras dos eletrodos de trabalho. A resina ou a pasta utilizada poderia, como ocorreu, cobrir a fibra do eletrodo de trabalho, inutilizando todo o chip. Além disso, para garantir que um eletrodo é um microeletrodo, é necessário garantir que sua área superficial seja fixa e a menor possível. Ao se fixar os eletrodos ao chip dessa forma, não se tinha nenhuma garantia da parcela de fibra que ficaria exposta à solução. Sendo assim, os eletrodos foram adaptados para se resolver isso com a utilização da ponteira de pipeta, como dito anteriormente. Após o preenchimento da ponteira contendo o eletrodo com resina, corta-se a ponta do eletrodo. Dessa forma, é garantido que

somente a ponta da fibra fique em contato com a solução e a área do eletrodo seja aproximadamente a espessura da fibra utilizada.

Utilizando-se, então, o eletrodo adaptado e o novo modelo de chip que o comporta, foram testadas novas formas de fixação dos componentes ao chip. Foi testada a utilização da cola epóxi Tekbond Araldite® e a cola adesiva Tekbond 793®. As Figuras 22 e 23 mostram os chips com os componentes fixados por ambos materiais.

Figura 22 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a cola adesiva Tekbond 793®.

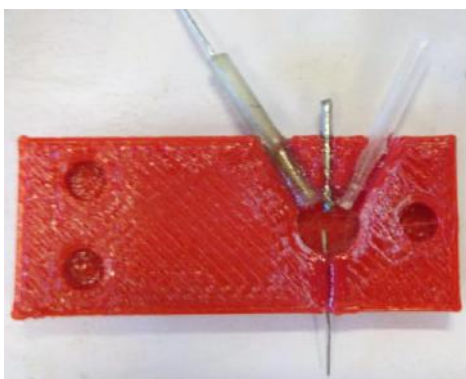
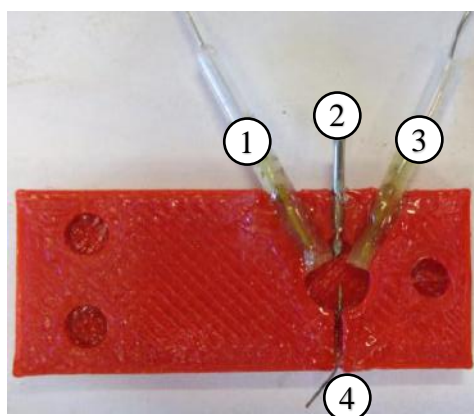


Figura 23 - Foto do teste de fixação dos componentes do chip com a cola epóxi Tekbond Araldite®. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.



Embora possuindo funcionamento semelhante, os dois materiais utilizados para a fixação apresentaram diferentes características. A cola adesiva (Tekbond 793®) possibilita um trabalho manual mais tranquilo por possuir uma secagem mais branda, quando comparada à cola epóxi (Tekbond Araldite®). Por se tratar de peças e componentes muito pequenos e na

ordem de milímetros, é um trabalho muito delicado que exige cautela para uma boa execução. Neste sentido, a cola adesiva seria de utilização ideal. Apesar disso, a cola epóxi é muito mais espessa que a cola adesiva, o que permite, no final das contas, um trabalho mais preciso na fixação dos eletrodos. Uma prova disso é o fato da cola adesiva ter vazado para a superfície dos eletrodos de trabalho durante sua fixação devido sua grande fluidez, o que acabou inviabilizando o eletrodo e, conseqüentemente, o chip.

Sendo assim, a cola epóxi, por mais que precise ser trabalhada com maior rapidez, possui o benefício da sua consistência na fixação dos componentes e foi a escolhida para as fixações futuras.

4.1.2.5. Sistema de injeção de amostra

A tampa de acrílico utilizada é mostrada na Figura 24. Os furos feitos foram pensados para a introdução de uma seringa que, por uma mangueira, é capaz de inserir a amostra a ser analisada.

Figura 24 - Foto de uma peça impressa com a tampa de acrílico posicionada acima.



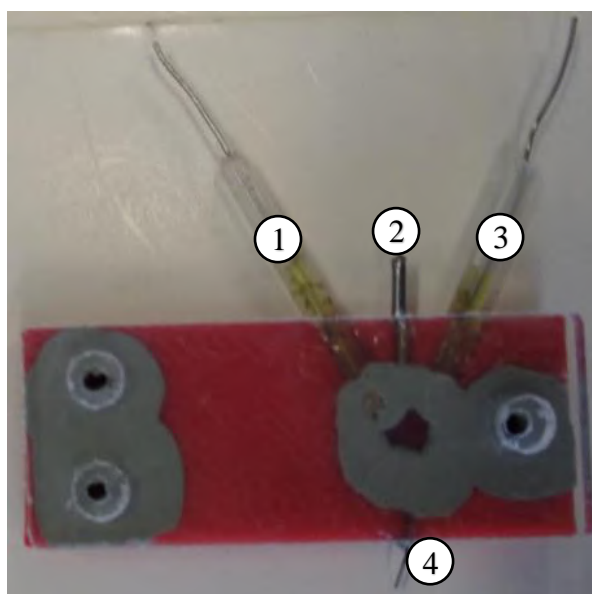
Nessa etapa, uma importante questão foi analisada: o isolamento completo do entorno dos canais de entrada e saída de amostra, além do poço de análise. Esse isolamento é de extrema importância pois determina o funcionamento do chip.

Para isso, de início, se pensou em um material capaz de promover uma boa aderência entre o ABS e o acrílico, de forma que o chip ficasse completamente isolado. Foram feitos testes com a utilização de cola adesiva Loctite Super Bonder® em gel e Loctite Durepoxi®, como mostrado nas Figuras 25 e 26.

Figura 25 - Utilização da cola adesiva Loctite Super Bonder® em gel para a fixação da tampa no chip.



Figura 26 - Utilização do Loctite Durepoxi® para a fixação da tampa no chip. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.



O Durepoxi® se demonstrou uma melhor opção, nesse momento, por permitir a regulagem de um desnível não previsto causado pela acomodação dos eletrodos no chip com a resina epóxi.

Para testar se o sistema de injeção de amostra e canais internos estavam em pleno funcionamento, foi adicionado água ao chip pelos canais de injeção.

Feito isso, notou-se que isolamento não foi completamente realizado e houve vazamento na região do poço de análise. O desnível causado pelos eletrodos foi prejudicial nesta etapa e assim surge a alteração a ser feita para otimização do chip.

Apesar da dificuldade causada pela acomodação dos eletrodos, foi possível perceber que, no poço de análise não havia uma quantidade de amostra tão satisfatória quanto desejado e isso poderia causar um eventual erro de leitura por ausência de solução nos eletrodos e falta de contato.

Por mais que o teste do sistema de injeção de amostra não tenha sido perfeito, serviu para mostrar as imperfeições na modelagem do chip, correções que poderiam ser feitas e serviu para provar que os canais internos do chip funcionaram perfeitamente para o transporte de amostra, com o chip se mantendo com sua estrutura impermeável.

4.1.2.6. Otimizações no chip

Tendo em vista os resultados obtidos com os testes realizados, foi pensado em um novo modelo de lab-on-a-chip contendo as mesmas características e objetivos do inicial, porém corrigindo as falhas e possibilitando melhoras no desenvolvimento e confecção do chip.

Os canais que acomodam os eletrodos foram redimensionados para que não houvesse desnível no chip na vedação com a tampa após a fixação dos componentes, corrigindo o erro verificado no teste de injeção de amostra.

O último poço, utilizado para a saída de amostra, foi removido. Então o local para a saída de amostra se tornou o poço de análise. Desta forma, fica garantido que sempre haverá solução em contato com os eletrodos, minimizando erros de análise.

Por fim, foi feita uma alteração que auxilia no vedamento dos orifícios do chip com a tampa. Foram adicionadas pequenas protuberâncias em volta dos canais de injeção de amostra, onde é necessário o isolamento, complementando o material que foi utilizado para fixar a tampa no chip.

Vale ressaltar que a região de mistura da amostra mostrada na Figura 8 permaneceu inalterada.

A Figura 27 mostra a modelagem do chip após as correções e a Figura 28 mostra a modelagem da tampa do chip otimizado.

Figura 27 - Modelagem otimizada do chip após correções com tamanho dos canais que comportam os eletrodos redimensionados, a utilização do poço de análise como canal de saída e as protuberâncias nos canais de entrada de amostra.

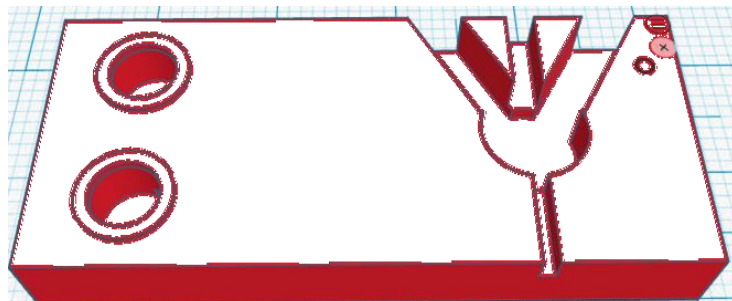
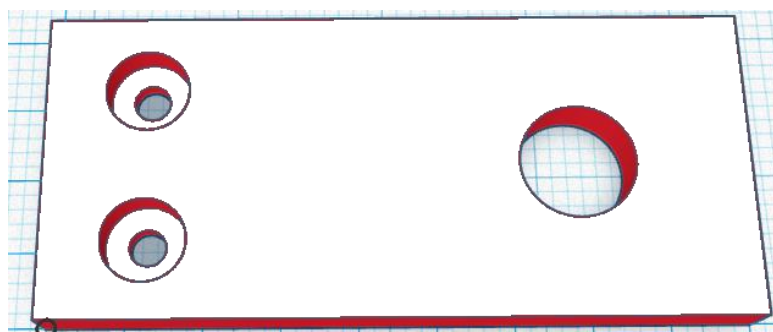


Figura 28 - Modelagem da tampa do chip otimizado.



Então, o modelo otimizado do chip foi impresso e a tampa de acrílico confeccionada por fresamento, da mesma maneira que anteriormente. A Figura 29 mostra a peça impressa e a Figura 30 mostra a tampa de acrílico sobre a nova peça.

Figura 29 - Chip impresso após otimizações. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.

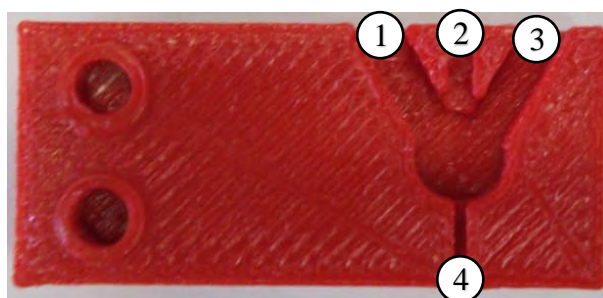
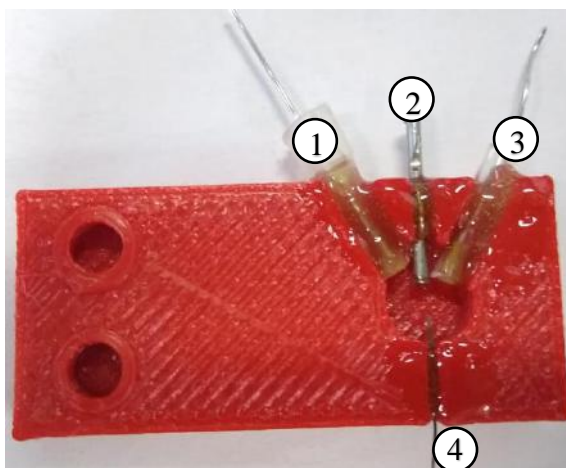


Figura 30 - Tampa de acrílico do chip após otimizações.



Com as peças confeccionadas, a fixação dos eletrodos foi feita com a utilização cola epóxi Tekbond Araldite®, como mostra a Figura 31.

Figura 31 - Fixação dos eletrodos no chip otimizado com cola epóxi Tekbond Araldite®. 1) Eletrodo de ouro; 2) Contra-eletrodo; 3) Eletrodo de cobre e 4) Eletrodo de referência.



Após a fixação dos eletrodos, a tampa foi colada ao chip através da cola adesiva Loctite Super Bonder® em gel nas regiões de injeção de amostra e do Loctite Durepoxi® no poço de amostra.

4.1.2.7. Teste do sistema de injeção de amostras e mistura de soluções no modelo otimizado

Sabendo que os canais internos são eficientes em transportar a amostra através no chip por meio dos testes anteriores, foi necessário verificar se o sistema de mistura de soluções era eficiente. Para isso, foi feito um teste qualitativo, no qual foi adicionada a mesma quantidade de soluções de CuSO_4 e CoSO_4 no chip a fim de se verificar a coloração da solução resultante.

Sabendo que a coloração das soluções de cobre e cobalto utilizadas são azulada e avermelhada, respectivamente, espera-se que a coloração resultante dessa mistura seja um tom de violeta, como mostra a Figura 32. A Figura 33 mostra como o teste foi realizado.

É importante ressaltar que, para essa mistura de soluções, não ocorre nenhuma reação química para alterar a coloração da solução e a coloração visualizada é simplesmente uma mistura física entre as soluções.

Figura 32 - Resultado esperado para a coloração da mistura das mesmas quantidades das soluções 1 (CoSO_4) e 2 (CuSO_4).

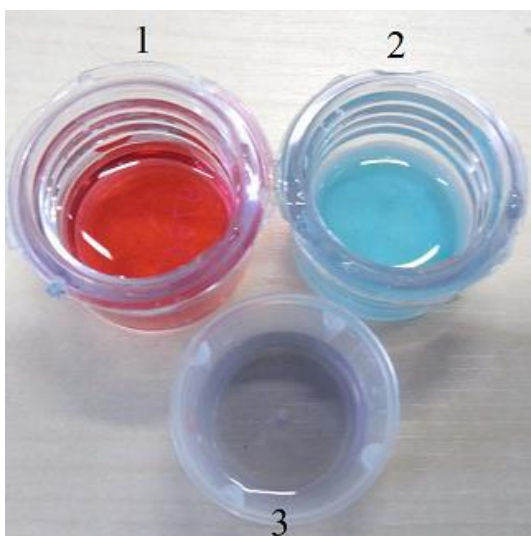


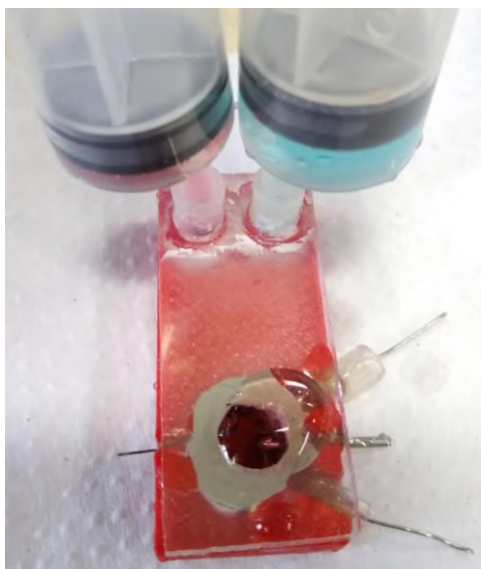
Figura 33 - Realização do teste de mistura de soluções realizado no chip otimizado.



Os resultados para esse teste foram positivos, como indicado na Figura 34. Apesar da dificuldade de visualização devido à coloração do próprio chip e a coloração da solução

resultante, pode-se perceber que a adição das duas soluções ao chip simultaneamente promove, aparentemente, uma mistura homogênea das mesmas. Isso possibilita diversos tipos de análises com padrões, futuramente, e uma grande funcionalidade num lab-on-a-chip.

Figura 34 - Resultado do teste de mistura de soluções no chip otimizado.



4.2. ANÁLISES VOLTAMÉTRICAS

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados referentes às análises voltamétricas realizadas com o chip construído.

4.2.1. Teste de funcionamento do chip

As voltametrias realizadas com os microeletrodos de ouro e cobre, com eletrodo de Ag /AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol/L}$), serviram para comparação do perfil das análises voltamétricas realizadas com o chip e voltametrias realizadas da maneira usual no laboratório. As Figuras 35 e 36 mostram, respectivamente, os voltamogramas dos microeletrodos de ouro e cobre nas mesmas condições utilizadas no chip (Quadro 1), com alteração no eletrodo de referência.

Uma observação importante é que a necessidade de se utilizar a solução de NaOH para as análises do eletrodo de cobre se dá por causa dos processos eletroquímicos referentes ao cobre que ocorrem em meio alcalino. Em meio ácido, não seria possível se observar certos processos.

Figura 35 - Voltametria cíclica com microeletrodo de ouro, eletrodo de referência de Ag/AgCl (em KCl 3M), e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,001 mol.L⁻¹ em KCl 0,1 mol.L⁻¹. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

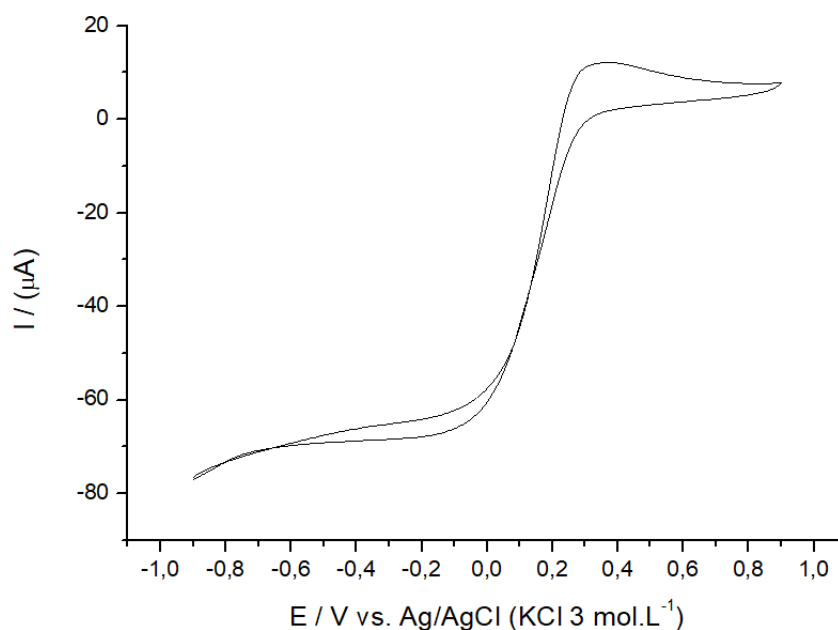
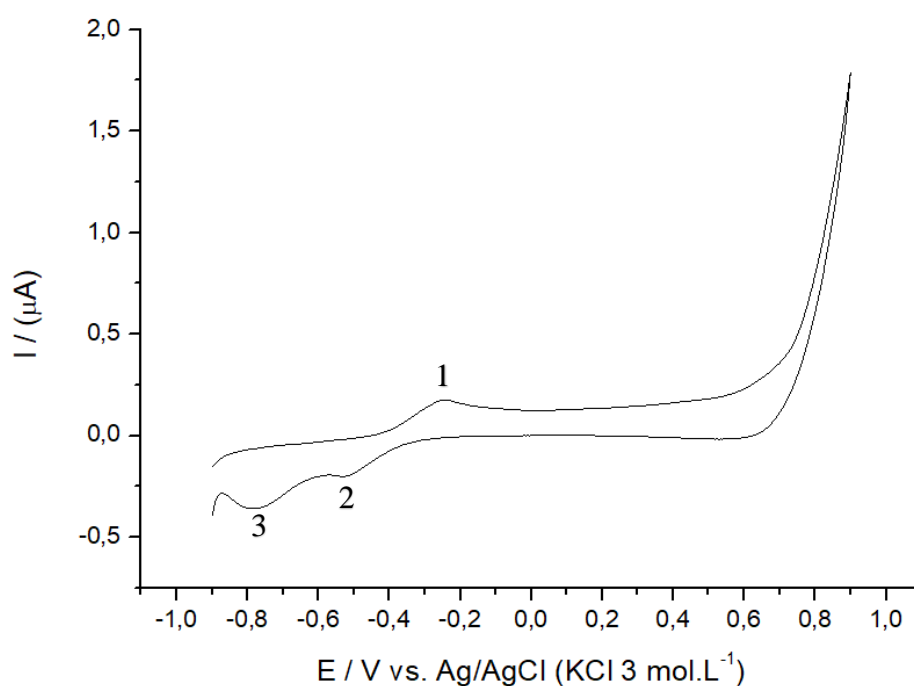
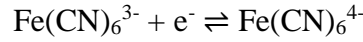


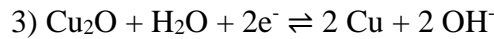
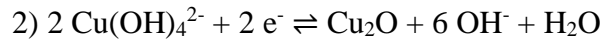
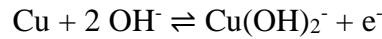
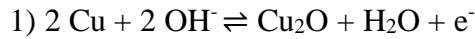
Figura 36 - Voltametria cíclica com microeletrodo de cobre, eletrodo de referência de Ag/AgCl (em KCl 3M), e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.



Os voltamogramas realizados apresentaram os perfis esperados para os sistemas utilizados. No caso do microeletrodo de ouro, observa-se o clássico perfil de oxidação e redução do sistema $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$, cujo processo é dado por:



Já para o microeletrodo de cobre em solução de NaOH, observa-se alguns dos diversos sinais de oxirredução das espécies com cobre em solução alcalina. Esses picos podem estar relacionados aos seguintes processos, como descrito pela literatura [23]:



Uma vez que os perfis dos eletrodos fora do sistema do chip estão estabelecidos, pode-se usá-los para comparação com os voltamogramas do chip, havendo assim um parâmetro para se dizer se o chip apresenta funcionamento dentro do esperado e se os resultados obtidos podem ser utilizados futuramente.

Com o sistema de injeção de amostras no chip em funcionamento, foram feitas as voltametrias cíclicas no chip, nos parâmetros descritos no Quadro 1, para testar os eletrodos de trabalho. As Figuras 37 e 38 mostram, respectivamente, os voltamogramas realizados com os eletrodos de ouro e cobre no sistema lab-on-a-chip construído.

Figura 37 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,001 mol.L⁻¹ em KCl 0,1 mol.L⁻¹. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

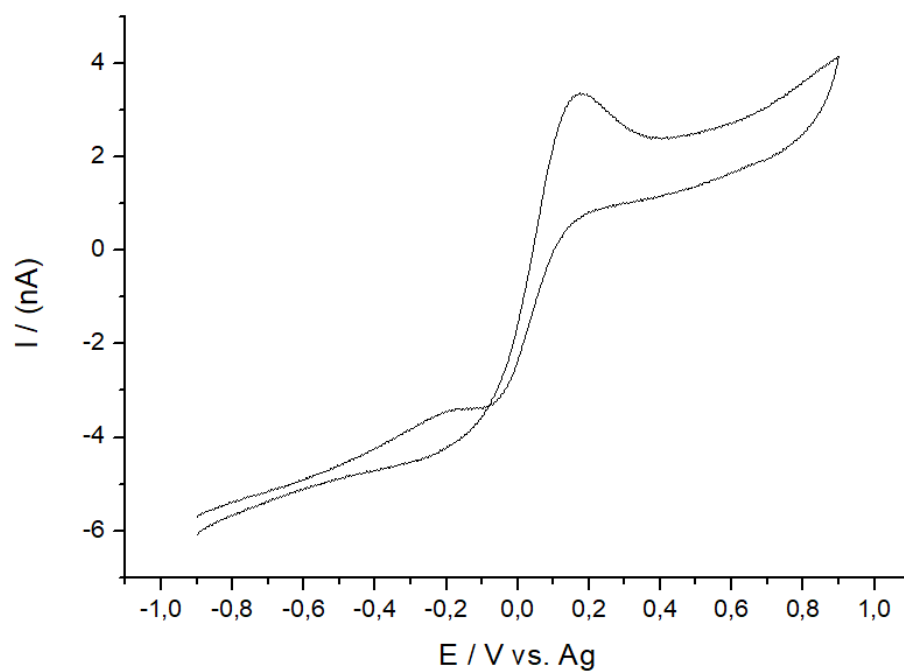
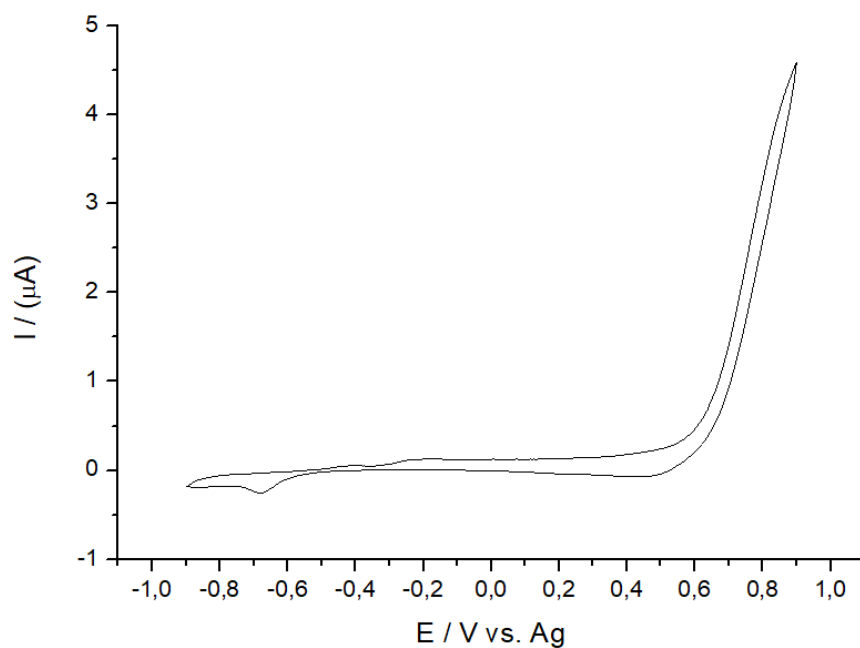
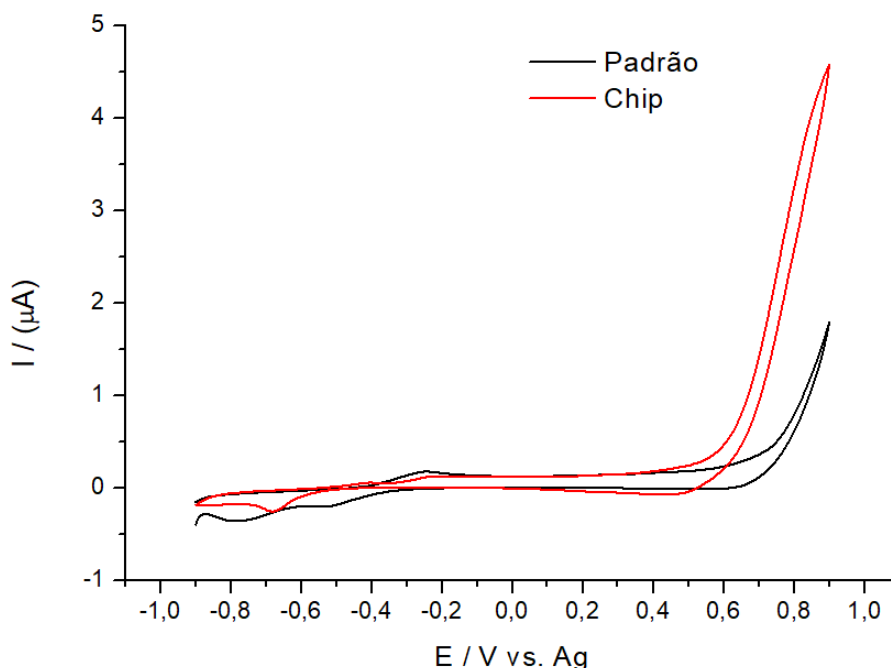


Figura 38 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de cobre, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.



A Figura 39 mostra uma sobreposição dos voltamogramas obtidos com o eletrodo de cobre no chip e no sistema padrão de eletrodos.

Figura 39 - Sobreposição dos voltamogramas obtidos com o eletrodo de cobre no chip confeccionado e no sistema padrão de eletrodos.



Para o eletrodo de cobre, observa-se um perfil semelhante ao verificado para o padrão, mostrando que uma análise com esse eletrodo no chip possui potencial de aplicação em futuros procedimentos.

Para o eletrodo de ouro, entretanto, embora o perfil seja parecido com o padrão, nota-se que os valores de corrente obtidos são muito próximos a zero. Isso pode indicar um mau funcionamento do eletrodo no chip, que pode ter sido causado por mau contato entre o fio e a fibra de ouro, ou algum tipo de impedimento na fibra causado, por exemplo, pela cola utilizada na fixação do mesmo. Até o momento de finalização deste trabalho, estão sendo realizados novos testes para a verificação das causas desse comportamento.

É importante ressaltar que, devido a utilização de um pseudo-referência (fio de prata) no sistema lab-on-a-chip, os valores de diferença de potencial obtidos nas voltametrias podem variar, quando comparados aos eletrodos de referência comumente utilizados. Um eletrodo de referência funciona, normalmente, através de um equilíbrio químico entre as espécies que o compõem. Uma vez que uma análise é realizada, esse equilíbrio químico possibilita que o potencial sentido pelo eletrodo de referência varie em pequenas proporções. Em um pseudo-

referência, como o utilizado no sistema construído, não há esse equilíbrio para se estabilizar esse potencial, provocando essas variações.

4.2.2. Análise de padrão de bebida

Para comparação dos resultados obtidos com o chip, foram utilizados os resultados obtidos por Leonardo F.L. Marengo em sua dissertação de mestrado intitulada “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração” [19]. O ajuste de pH feito para as análises com o padrão é necessário para garantir a ionização do etanol.

O voltamograma obtido pela análise do padrão da vodca Smirnoff® com pH ajustado a 13 com a utilização do chip, no eletrodo de ouro é mostrado na Figura 40. O voltamograma para comparação é mostrado na Figura 41.

Figura 40 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

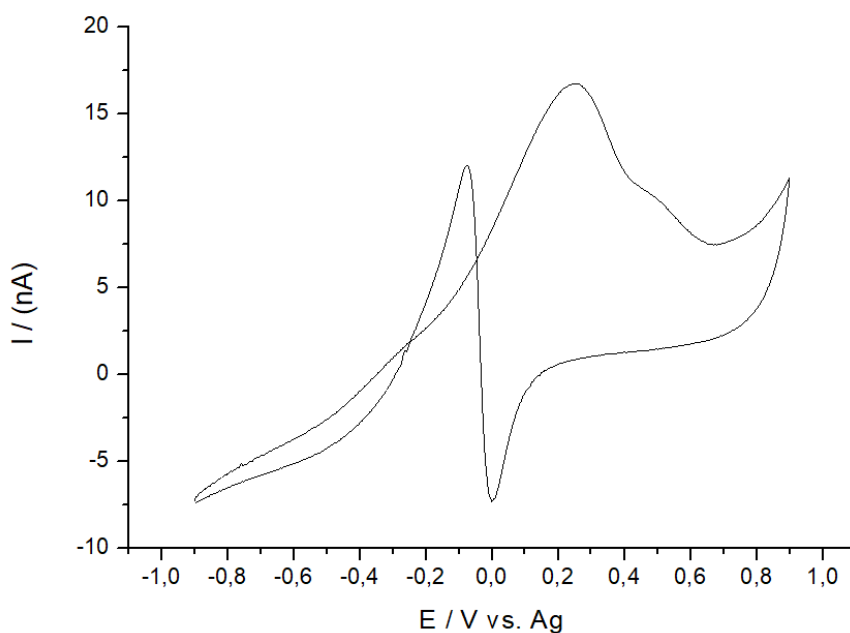
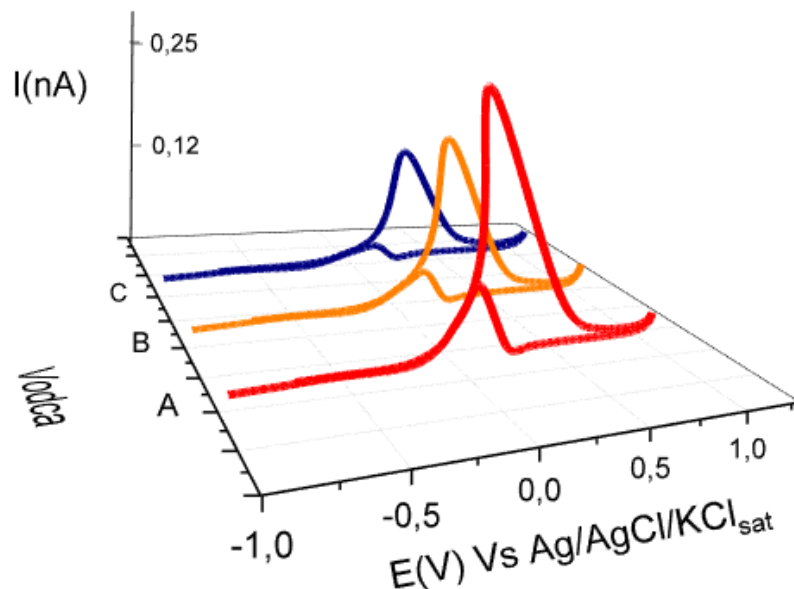
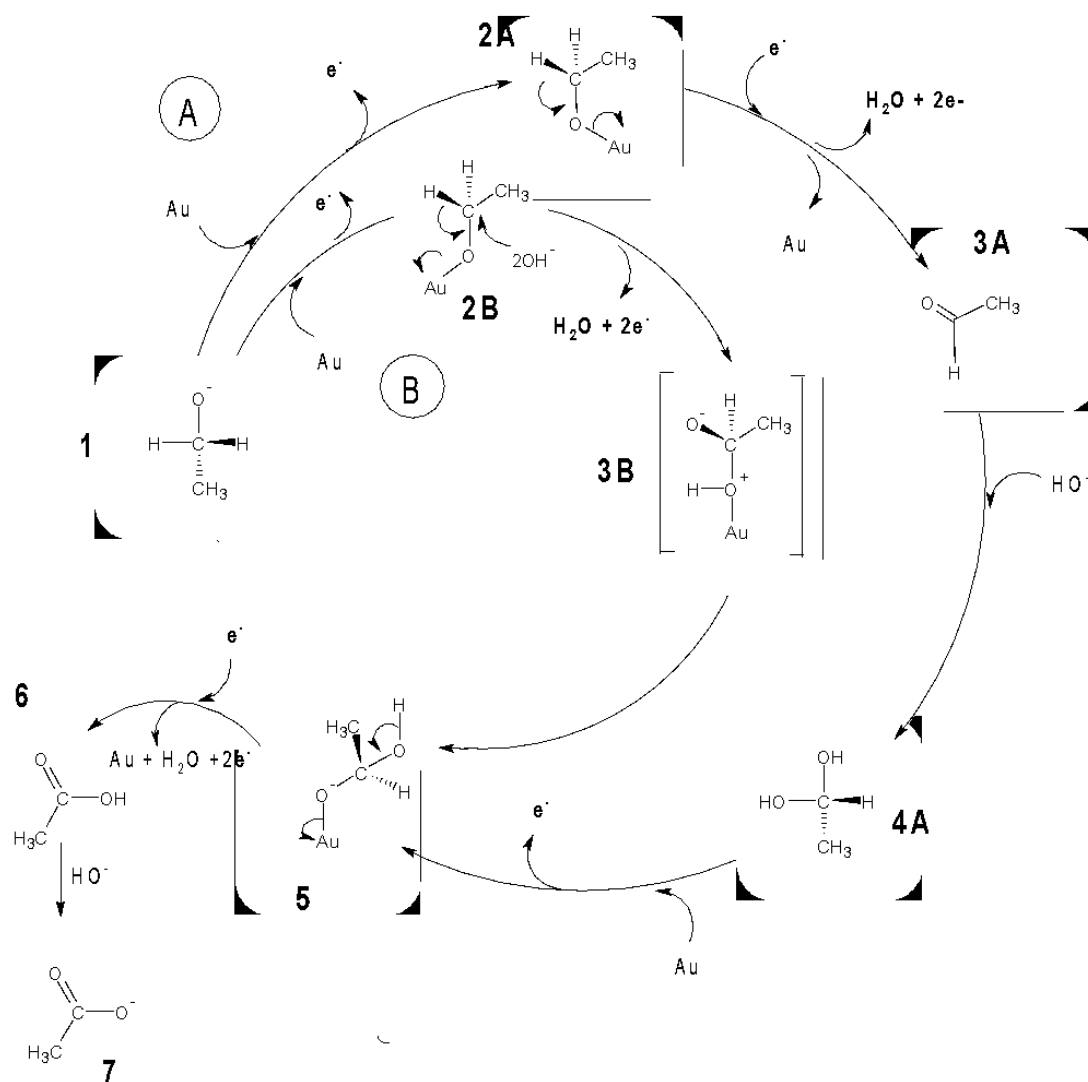


Figura 41 - Voltamogramas cíclicos das vodcas registrados com o microeletrodo Au: (A) Skyy®, (B) Smirnoff® e (C) Russian Rye® em NaOH 0,1 mol.L⁻¹ e $V_{\text{varredura}}$: 100 mV.s⁻¹. Retirado de: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração,” *Diss. Mestrado, UFRJ*, 2018.



Ao se comparar o voltamograma da análise da vodca Smirnoff® realizada com o chip confeccionado com o voltamograma B da Figura 41, obtido por um método convencional de voltametria, pode-se perceber que o perfil eletroquímico do resultado obtido com o chip é semelhante ao esperado. Observa-se os mesmos picos oxidação do analito, porém com diferença de potencial deslocada, o que pode ser explicado pela utilização de um pseudo-referência. Os picos de oxidação observados podem estar associados à oxidação do etanol na superfície do eletrodo de ouro [19]. Os mecanismos de oxidação do etanol no eletrodo de ouro podem ser explicados como mostrado na Figura 42.

Figura 42 - Mecanismo de oxidação do etanol em eletrodo de Au em meio alcalino. Fonte: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração,” *Diss. Mestrado, UFRJ*, 2018.



O voltamograma obtido pela análise do padrão da vodka Smirnoff® com pH ajustado a 13 com a utilização do chip, no eletrodo de cobre é mostrado na Figura 43. O voltamograma para comparação é mostrado na Figura 44.

Figura 43 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de cobre, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodca Smirnoff® pH 13. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

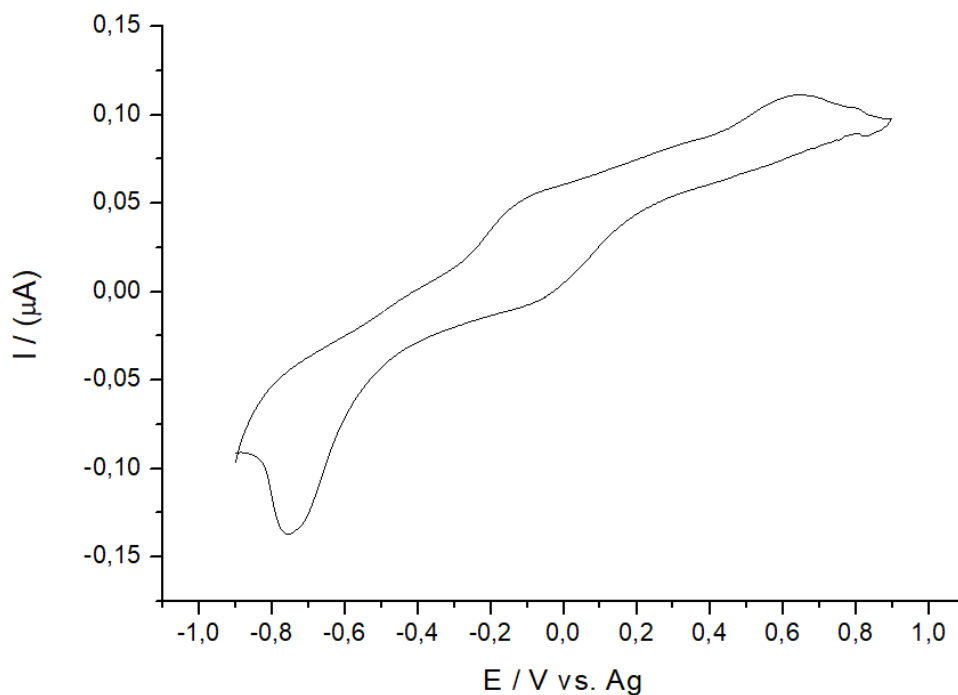
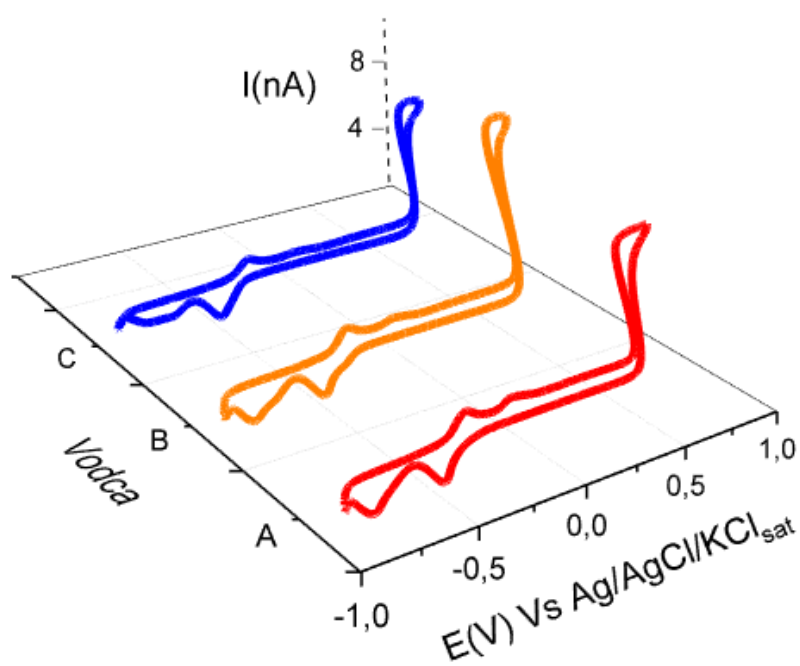
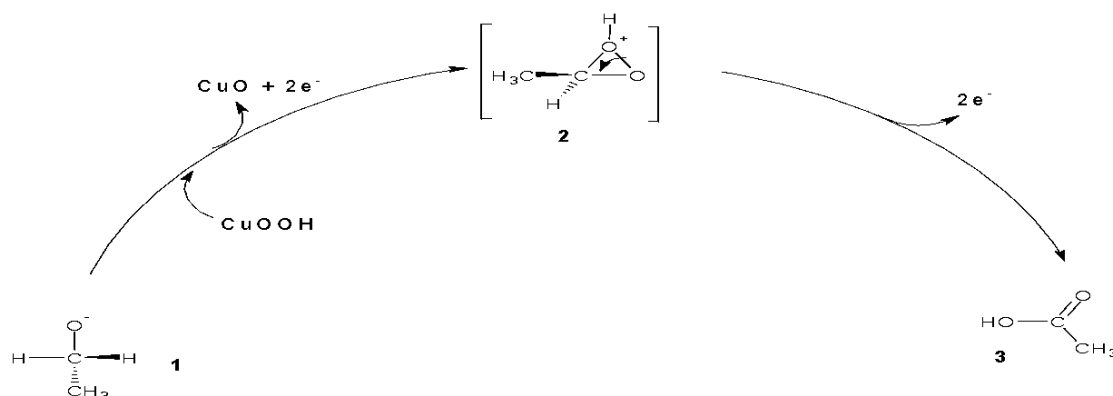


Figura 44 - Voltamogramas cíclicos das vodcas registrados com o microeletrodo Cu: (A) Skyy®, (B) Smirnoff® e (C) Russian Rye® em NaOH 0,1 mol.L⁻¹ e $V_{\text{varredura}}$: 100 mV.s⁻¹. Retirado de: L. F. L. Marengo, "Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração," *Diss. Mestrado, UFRJ*, 2018.



Ao se comparar o voltamograma da análise da vodca Smirnoff® realizada com o chip confeccionado com o voltamograma B da Figura 44, obtido por um método convencional de voltametria, pode-se observar os picos referentes às espécies de cobre em meio alcalino, como mostrado na Figura 36. Além disso, em aproximadamente 0,7 V nota-se um pico de oxidação que pode ser associado à oxidação do etanol [19]. O mecanismo de oxidação do etanol no eletrodo de cobre pode ser explicado como mostrado na Figura 45.

Figura 45 - Mecanismo de oxidação proposto para a oxidação de etanol sobre o microeletrodo de Cu. Fonte: L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração,” *Diss. Mestrado, UFRJ*, 2018.



4.2.3. Análise de padrão de bebidas adulteradas

Os voltamogramas obtidos com a análise do padrão da vodca Smirnoff® adulterado com água e metanol, com a utilização do chip, no eletrodo de ouro, são mostrados nas Figuras 46 e 47, respectivamente.

Figura 46 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodka Smirnoff® pH 13 adulterada com água. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

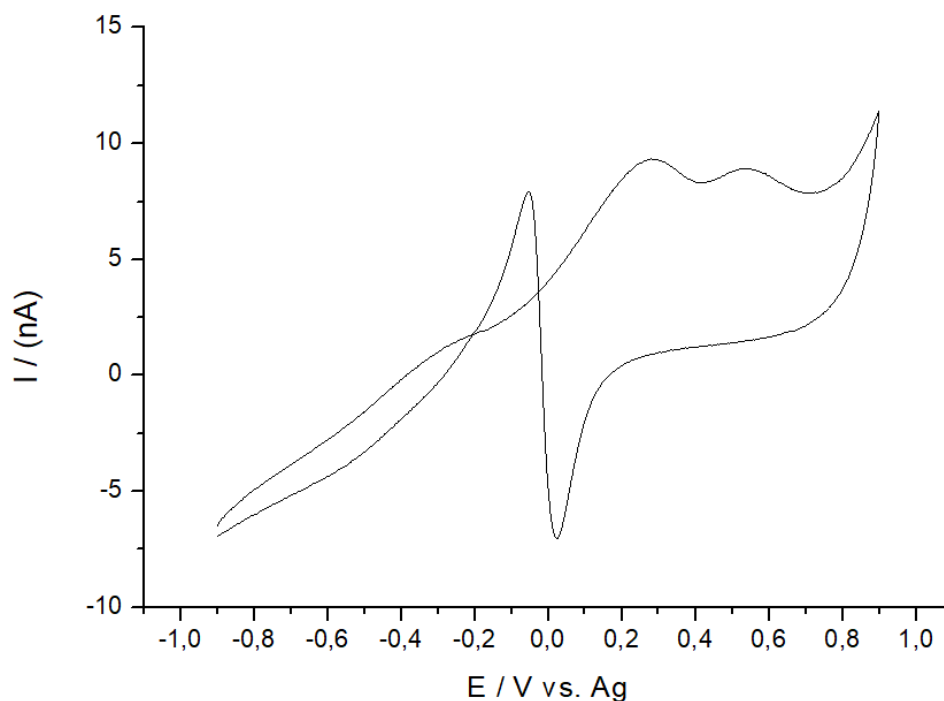
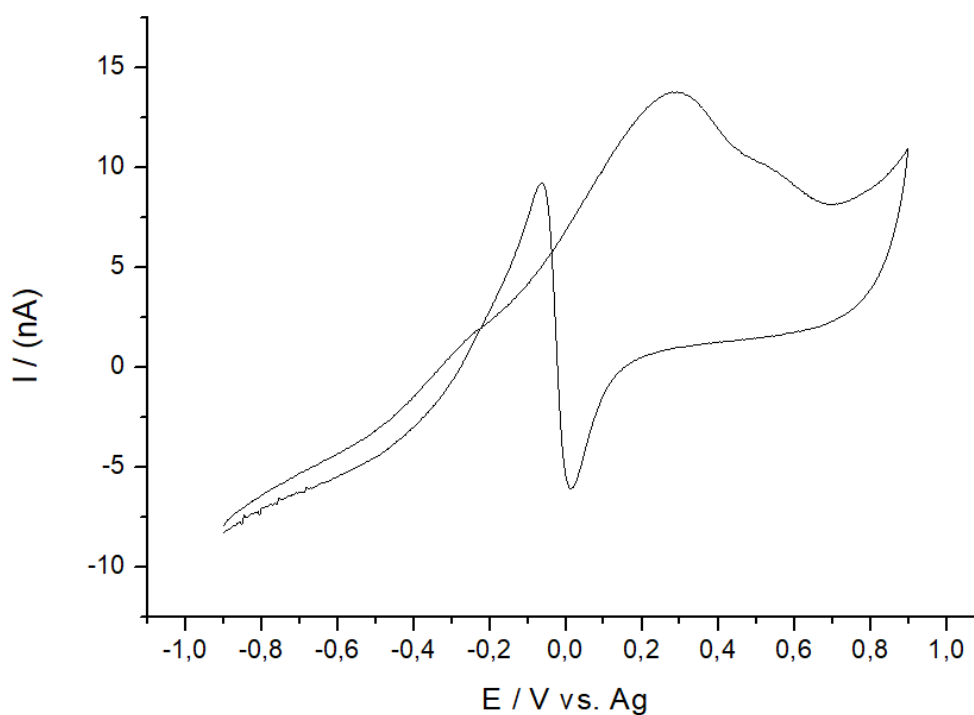


Figura 47 - Voltametria cíclica no lab-on-a-chip construído, com eletrodo de trabalho de ouro, eletrodo de referência de Ag, e contra-eletrodo de agulha de aço inox. Solução padrão de vodka Smirnoff® pH 13 adulterada com metanol. Parâmetros utilizados: janela de potencial: -0,9 a 0,9 V, velocidade de varredura: 100mV/s, potencial de equalização: -0,9 V e tempo de equalização: 30 s.

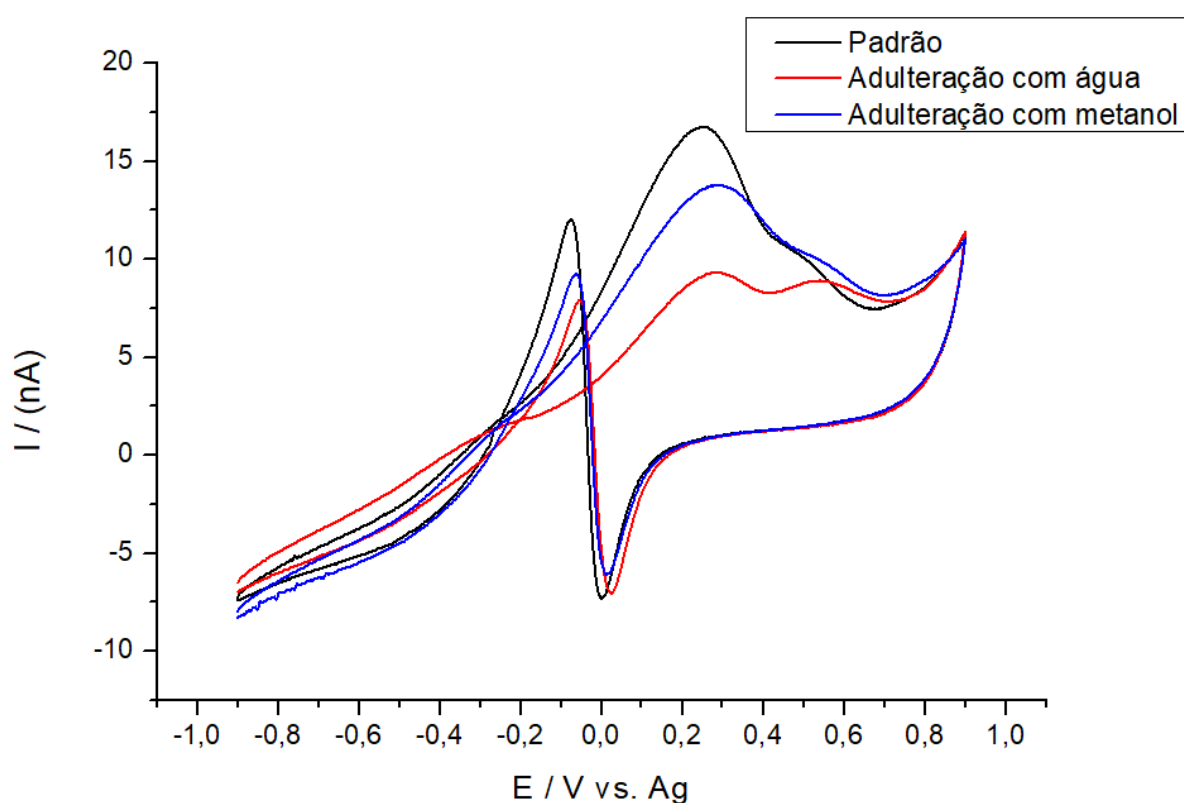


Quanto ao teste realizado com a adulteração por adição de água, na Figura 46, percebe-se a diminuição dos picos de oxidação das espécies em relação ao resultado padrão, principalmente em relação ao pico próximo de 0,2V, evidenciando mais o pico em 0,5V. Isso pode ser explicado pela simples redução da concentração de analito na amostra, visto que a intensidade dos picos de redução e oxidação obtidos nas voltametrias são diretamente proporcionais às concentrações das espécies no meio.

Quanto ao teste realizado com a adulteração por adição de metanol, na Figura 47, é notada uma diferença sutil entre eles. Para esse tipo de situação, pode-se utilizar ferramentas quimiométricas para se correlacionar os resultados de amostras adulteradas ou não.

A Figura 48 mostra uma comparação entre os 3 voltamogramas, evidenciando esses comentários.

Figura 48 - Comparação entre os voltamogramas obtidos com eletrodo de ouro para o padrão de vodca Smirnoff® (—), a adulteração com adição de água (—) e a adulteração com adição de metanol (—).



5. CONCLUSÕES

O projeto do sistema lab-on-a-chip foi bem-sucedido, uma vez que é possível se adequar os componentes e materiais utilizados para a fixação dos mesmos no chip. A confecção do chip por impressão 3D tornou o procedimento de fabricação do chip simples, já que, após a modelagem estar concluída, é possível dar início imediato à impressão, que é um processo extremamente rápido nas condições trabalhadas, tendo ocupado cerca de 5 minutos por peça impressa. Além disso, a confecção da tampa de acrílico por fresamento possibilitou uma visualização muito clara do processo de fixação da tampa ao chip, o que possibilitou futuras correções. A forma de fixação, com cola epóxi Tekbond Araldite®, dos componentes dos eletrodos e o sistema de injeção de amostras se mostraram promissores.

O procedimento geral de confecção do chip pode ser descrito, então, pela confecção dos eletrodos do chip, sua fixação na peça impressa com cola epóxi Tekbond Araldite®, a fixação da tampa de acrílico ao chip com Loctite Durepoxi® e, por fim, a mangueira de silicone que permite a utilização da seringa para injeção de amostra conectada à tampa de acrílico com cola adesiva Loctite Super Bonder®.

Utilizando o chip construído, foi possível realizar voltametrias cíclicas em soluções cujo perfil eletroquímico é conhecido e seus resultados foram comparados aos esperados. Além disso, foram realizadas análises voltamétricas em padrão de bebida alcoólica e em padrão simulando adulteração de bebida. Tais análises provaram que o chip confeccionado é sensível a alguns parâmetros indicativos de adulteração, mas ainda necessita de aperfeiçoamentos para poder vir a indicar outros parâmetros, sugerindo sua viabilidade para esse tipo de análise.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como próximos passos para o projeto, pode ser feita uma otimização na modelagem do chip que permite a utilização de um canal de saída de amostra novamente, sem que haja problemas na quantidade de solução no poço de amostra.

Pode-se, também, reavaliar o uso dos materiais utilizados na fixação dos componentes do chip e da tampa de acrílico. Embora os resultados com esses materiais tenham sido satisfatórios, eles podem ser otimizados com a utilização de materiais mais simples ou com menor poluição visual no chip.

Quanto às análises voltamétricas, a próxima etapa é a análise de amostras reais de bebidas adulteradas e sua discriminação em relação a bebidas não adulteradas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Á. Ríos, M. Zougagh, and M. Avila, “Miniaturization through lab-on-a-chip: Utopia or reality for routine laboratories? A review,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 740, pp. 1–11, 2012.
- [2] S. L. Aristizábal, “Desenvolvimento de sistemas Lab-on-a-Chip para análises em biofísica celular,” *Tese Doutorado do Curso Eng. Eléctrica, Esc. Politécnica, Univ. São Paulo*, 2012.
- [3] G. T. Vladislavljević *et al.*, “Industrial lab-on-a-chip: Design, applications and scale-up for drug discovery and delivery,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 65, no. 11–12, pp. 1626–1663, 2013.
- [4] Y. Zhou, “The recent development and applications of fluidic channels by 3D printing,” *J. Biomed. Sci.*, vol. 24, no. 1, pp. 1–22, 2017.
- [5] M. L. Y. Sin, J. Gao, J. C. Liao, and P. K. Wong, “System Integration - A Major Step toward Lab on a Chip,” *J. Biol. Eng.*, vol. 5, no. May, 2011.
- [6] K. S. Krishna, Y. Li, S. Li, and C. S. S. R. Kumar, “Lab-on-a-chip synthesis of inorganic nanomaterials and quantum dots for biomedical applications,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 65, no. 11–12, pp. 1470–1495, 2013.
- [7] S. Dekker *et al.*, “Standardized and modular microfluidic platform for fast Lab on Chip system development,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 272, pp. 468–478, 2018.
- [8] A. Schaap, T. Rohrlack, and Y. Bellouard, “Lab on a chip technologies for algae detection: A review,” *J. Biophotonics*, vol. 5, no. 8–9, pp. 661–672, 2012.
- [9] S. Julich *et al.*, “Development of a lab-on-a-chip device for diagnosis of plant pathogens,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 10, pp. 4070–4075, 2011.
- [10] M. J. C. Pontes *et al.*, “Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry,” *Food Res. Int.*, vol. 39, no. 2, pp. 182–189, 2006.
- [11] D. S. M. Ribeiro and J. L. M. Santos, “Controlo químico de bebidas adulteradas em crimes facilitados com drogas Beverage Chemical control adulterated in drug facilitated crimes,” *Acta Farm. Port.*, vol. 2, no. 2, pp. 121–134, 2013.
- [12] S. Kamiloglu, “Authenticity and traceability in beverages,” *Food Chem.*, vol. 277, no. June 2018, pp. 12–24, 2019.
- [13] D. Arantes, T. P. Pg, M. Talhavini, M. Moreira, and S. Pq, “Análise de Bebidas Falsas / Adulteradas Utilizando as Técnicas de CG / EM , Cromatografia Iônica , Extrato Seco e

Condutividade Elétrica,” p. 1.

- [14] N. Ogrinc, I. J. Košir, J. E. Spangenberg, and J. Kidrič, “The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 376, no. 4, pp. 424–430, 2003.
- [15] R. S. Da Costa *et al.*, “A novel strategy to verification of adulteration in alcoholic beverages based on Schlieren effect measurements and chemometric techniques,” *Microchem. J.*, vol. 78, no. 1, pp. 27–33, 2004.
- [16] W. F. Pacheco, F. S. Semaan, and V. G. K. De Almeida, “Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Abstract : The present work presents a simple and didactic approach regarding some Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos,” *Rev. Virtual Química*, vol. 5, no. 4, pp. 516–537, 2013.
- [17] A. Cristina and V. Morillo, “Eletrodo quimicamente modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em heparina aplicado na determinação de ácido clorogênico,” p. 52, 2017.
- [18] V. F. de Melo, “Estudo quimiométrico em amostras de bebidas alcoólicas adulteradas,” *Trab. Conclusão Curso, UFRJ*, 2018.
- [19] L. F. L. Marengo, “Utilização de métodos eletroquímicos para análise de bebidas alcoólicas com suspeita de adulteração,” *Diss. Mestrado, UFRJ*, 2018.
- [20] “Voltametria,” *PUC-Rio*, disponível em https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/5180/5180_3.PDF. Acessado em 29/02/2020
- [21] C. SKOOG, WEST, HOLLER, “Fundamentos de química analítica,” vol. 8º ed., 1979.
- [22] P. T. Kissinger and W. R. Heineman, “Cyclic voltammetry,” *J. Chem. Educ.*, vol. 60, no. 9, pp. 702–706, 1983.
- [23] T. R. L. C. DA PAIXÃO, “Utilização de eletrodos de Cu e Au em eletroanalítica: detecção amperométrica de etanol em ar exalado e outras aplicações,” *Diss. Mestrado. USP*, 2004.